Aus der Kinderklinik B der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. E. Schmidt

Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Thrombocytenretention

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Hans-Georg Bresser

~~1982~~
1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543915_0084

Aus der Kinderklinik B der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. E. Schmidt

Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Thrombocytenretention

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Hans-Georg Bresser

1982

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Priv.Doz.Dr.v. Voss
Korreferent
gez.: Prof. Dr. Reimers

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
1.1	Die Blutungsstillung	1
1.2	Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Blutgerinnung	3
1.3	Methoden zum Nachweis des Acetylsalicylsäure-Einflusses auf die Blutgerinnung	4
1.4	Aufgabenstellung	9
2.	Methodik	10
2.1	Untersuchung der Thrombocytenretention in Nativblut	12
2.2	Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien in Vollblut	14
2.3	Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure in Vollblut	16
2.4	Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch	17
2.5	Untersuchung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten unter Einfluß von Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch	18
2.6	Auswahl der Probanden	22
3.	Ergebnisse	22
3.1	Untersuchung der Thrombocytenretention in Nativblut	22
3.2	Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien in Vollblut	22
3.3	Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure in Vollblut	32
3.4	Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und	46

Seite

Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

3.5 Untersuchung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten unter Einfluß von Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch 62

4. Diskussion 85

4.1 Untersuchung der Thrombocytenretention in Nativblut 86

4.2 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien in Vollblut 86

4.3 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure in Vollblut 93

4.4 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch 101

4.5 Untersuchung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten unter Einfluß von Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch 104

5. Zusammenfassung 106

6. Literaturverzeichnis 109

1. Einleitung

1.1 Die Blutungsstillung

Nach einer Verletzung sind vaskuläre, plasmatische und zelluläre (thrombocytäre) Prozesse an der Blutstillung beteiligt. Zur Verdeutlichung soll der einheitliche Vorgang der Blutstillung in drei Phasen gegliedert werden:
1) Posttraumatische Sofort- oder Frühphase
2) Ausbildung eines Gefäßwundverschlusses
3) Verfestigung des Wundverschlusses.

Im Anschluß an die Gefäßverletzung findet eine vorübergehende Vasokonstriktion statt; diese führt zu einer passageren Verlangsamung des Blutstromes. Durch diese Blutstrom-Verlangsamung wird die Adhäsion der Thrombocyten an den durch die Läsion freigelegten Strukturen - insbesondere Kollagenfasern und Basalmembran - gefördert (4, 5, 13, 59). Ein Plättchenaggregat entsteht in der Folge sehr schnell dadurch, daß sich an die adhärenten Thrombocyten weitere zirkulierende Plättchen anlagern. Mit der Ausbildung des Gefäßwundverschlusses ist die zweite Phase der Blutstillung erreicht.

Im Verlauf der Adhäsion und Aggregation wird durch den Kontakt der Thrombocyten mit Kollagen aus den Plättchen Adenosindiphosphat (ADP) freigesetzt (55, 57, 58).

Das freigesetzte ADP ist für die Aggregation verantwortlich. Gleichzeitig bilden Gewebefaktoren

über das sogenannte "extrinsic system" und verschiedene plasmatische Gerinnungsfaktoren Gewebsthrombokinase, die ihrerseits Prothrombin in Thrombin überführt.

Thrombin führt zu einer Freisetzungsreaktion ("release reaction" (43)) verschiedener Substanzen aus den Thrombocyten; u.a. sind dies: ADP, Plättchenfaktor 3 (105), Plättchenfaktor 4 (38), biologisch aktive Amine und andere gerinnungsaktive Substanzen. Durch ADP wird die Aggregation verstärkt. Weil in der sogenannten "Plättchenatmosphäre" die plasmatischen Gerinnungsfaktoren vorhanden sind, führt der Plättchenfaktor 3-Komplex zur Bildung der Blutthrombokinase und damit zur Entstehung von Thrombin (11, 61). Hierdurch werden "release reaction" und Aggregation verstärkt.

Die Freisetzungsreaktion ist ein Teil der sogenannten viskösen Metamorphose (70). Während der viskösen Metamorphose kommt es außerdem zu morphologischen und biochemischen Veränderungen der Thrombocyten. Sie schwellen an und bilden Pseudopodien. Weiterhin kommt es zu einem Schwund von Zellorganellen. Die Aggregation nimmt bei erhaltener Zellmembran weiter zu (56, 71, 124). Damit beginnt die dritte Phase der Blutstillung, die Verfestigung des Wundverschlusses. Der Thrombocytenpfropf wird durch das über "extrinsic system" und "intrinsic system" der plasmatischen Gerinnung entstandene Fibrin verfestigt (78). Unter dem Einfluß von Thrombosthenin, einem kontraktilen Thrombocytenprotein, kontrahiert sich das Gerinn-

sel (71, 72).

Durch diesen Vorgang wird ein stabiler Wundverschluß erreicht, der auch über die Dauer der Vasokonstriktion hinaus bestehen bleibt. Somit sind die Thrombocyten an allen Phasen der Blutstillung beteiligt. Veränderungen der Thrombocytenfunktion können daher zu Störungen der Blutstillung führen.

1.2 Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Blutgerinnung

Neben angeborenen Störungen der Plättchenfunktion, z.B. der v. WILLEBRAND-JÜRGENS'schen Erkrankung (10, 14, 79, 83, 93, 95, 114, 125), und erworbenen Thrombocytenfunktionsstörungen, z.B. bei der Urämie (3, 79, 96, 100) oder der Makroglobulinämie (1, 10, 31) können auch Medikamente die Thrombocytenfunktion beeinflussen (7, 41, 74, 87). Gerade eine plötzlich auftretende Blutungsneigung wird häufig medikamentös induziert. Medikamente können schwerste Störungen der Thrombocytenfunktion hervorrufen (9, 15, 104, 107, 121). So kann eine erniedrigte Adhäsivität der Plättchen z.B. durch Antihistaminika (82, 112), Bencyclan (73), Dextran (29), Dipyridamol (32, 111), Dipropylessigsäure (115) und Streptokinase (30) verursacht werden.

Daß Acetylsalicylsäure zu schweren Blutungen im Magen-Darm-Trakt führen kann, ist seit langem bekannt (35, 88). Im Jahre 1954 wurde erstmals

über die hemmende Wirkung der Acetylsalicylsäure auf die Blutgerinnung berichtet (12). Weiterhin wurde über eine Verlängerung der Blutungszeit (90) und über eine Hemmung der Aggregation (120) berichtet. Diese Beobachtungen werden mit einer gehemmten ADP-Freisetzung aus den Thrombocyten erklärt (15). Andere Autoren nahmen an, daß Acetylsalicylsäure zu einer Acetylierung von Albuminen führt, ebenso zur Acetylierung von Proteinen an der Thrombocytenoberfläche (35).

Über die Anwendung als Analgetikum und Antipyretikum hinaus ergab sich in der Folge dieser Beobachtungen als weitere Indikation für Acetylsalicylsäure die Gerinnungshemmung. So setzte man Acetylsalicylsäure mit unterschiedlichem Erfolg in der Thromboseprophylaxe ein (23, 68, 69, 97, 101, 102, 103, 119). Der erfolgreiche Einsatz bei der Prophylaxe thrombembolischer Komplikationen wurde später infragegestellt (76). Andere Autoren führten dieses negative Urteil hinsichtlich der Wirkung in der Thromboseprophylaxe auf die zu niedrige Dosierung zurück (22, 27). Darüber hinaus konnte im Doppelblindversuch nachgewiesen werden, daß Acetylsalicylsäure sich positiv auf das Offenhalten von Cimino-Fisteln bei Hämodialysepatienten auswirkt (2).

1.3 Methoden zum Nachweis des Acetylsalicylsäure-Einflusses auf die Blutgerinnung

Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Blut-

gerinnung kann anhand verschiedener Parameter nachgewiesen werden. Die Nachweismethoden sind jedoch zum Teil mit erheblichen Nachteilen behaftet.

So ist eine Verkürzung der Prothrombinzeit nur im Anfangsstadium einer ASS-Medikation nachweisbar. Später tritt eine Normalisierung der Werte ein (26, 86). Für eine dauerhafte Kontrolle des ASS-Effekts auf die Blutgerinnung ist dieses Verfahren demnach nicht geeignet.

Im Plättchenaggregationstest (PAT) nach BREDDIN et. al. (20) ist die Wirkung von ASS auf die Blutgerinnung nur im Plasma von Patienten mit schon spontan gesteigerter Aggregationstendenz nachweisbar. Damit ist auch dieses Verfahren allgemein nicht zum Nachweis der ASS-Wirkung geeignet.

Mit den meisten anderen Thrombocytenfunktionstests läßt sich der ASS-Einfluß überhaupt nicht nachweisen. Dieses gilt z.B. für die Thrombocytenausbreitung (19), für den Thrombocytenadhäsivitätsindex (21).

Die Liquoid- (polyäthanolsulfonsaures Natrium) induzierte Aggregation wird ebensowenig gehemmt wie die Thrombin-induzierte Aggregation (46).

Für die ADP-induzierte Aggregation widersprechen sich die Angaben (94, 117, 126). Die Kollagen-induzierte Aggregation wird unterschiedlich stark gehemmt; es kommt nicht zu einer irreversiblen,

vollständigen Aggregationshemmung (46). Eine Verlängerung der Blutungszeit wurde nach ASS-Applikation sowohl bei Patienten mit einer hämorrhagischen Diathese, z.B. einem v. WILLEBRAND-JÜRGENS-Syndrom, als auch bei Normalpersonen festgestellt (8, 89). Zum Teil wurde die verlängerte Blutungszeit nach Applikation von ASS als diagnostischer Hinweis auf eine latent vorhandene hämorrhagische Diathese gewertet (44, 77, 91).

Die Wirkungsdauer von ASS auf die Blutungszeit ist nicht bekannt, das Ausmaß der Blutungszeitverlängerung ist individuell sehr unterschiedlich (46). Diese Tatsachen lassen die Kontrolle der ASS-Wirkung mit Hilfe der Blutungszeit-Messung als wenig geeignet erscheinen, insbesondere was die Forderungen nach Standardisierung und Reproduzierbarkeit der Meßmethode angeht.

Mit der Kollagen-induzierten-Aggregation lassen sich die durch ASS hervorgerufenen Hemmungseffekte nachweisen. Der Mechanismus, der dieser Hemmung zugrundeliegt, ist nicht sicher bekannt. Möglicherweise spielt die Acetylierung von Membranproteinen dabei eine Rolle (35, 94, 117). Es wird angenommen, daß die Normalisierung der Aggregation auf die Neubildung funktionsfähiger Plättchen zurückzuführen ist (117). Mit der Kollagen-induzierten-Aggregation besteht allerdings nur in den ersten Stunden nach ASS-Applikation die Möglichkeit des Nachweises. Der Test ist nicht sensitiv genug, um die Aggregations-Hemmung über längere Zeit zu kontrollieren (101, 117, 119).

Acetylsalicylsäure führt zu einer deutlichen Hemmung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten. Die Messung der MDA-Produktion beruht auf der Tatsache, daß aus dem Phospholipoidkomplex unter der Wirkung von Phospholipase-A Arachidonsäure freigesetzt wird. Arachidonsäure ist die Schlüsselsubstanz für die Synthese von Prostaglandinen, welche durch die bekannten Wirkungen auf die glatte Muskulatur die Thrombocyten-Aggregation beeinflussen. Dasselbe gilt für die cyclischen Endoperoxyde als Prostaglandinvorstufen. Zum Teil wird durch Prostaglandine die Aggregation induziert, bzw. kommt es durch Prostaglandine zur Verfestigung von Plättchen-Aggregaten. Ein anderer Teil der Prostaglandine verhindert die Aggregation.

Malonyldialdehyd entsteht als Zwischenprodukt bei der Synthese von Prostaglandinen aus Arachidonsäure. Zunächst entstehen cyclische Endoperoxyde unter der Einwirkung von Lipooxygenasen und Cyclooxygenasen. Diese können unter Enzymeinwirkung zu Prostaglandinen umgebaut werden.

Die Messung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten ist als Verfahren zur Bestimmung der Plättchenüberlebenszeit empfohlen worden (108, 110). Diese Empfehlung ging von der Tatsache aus, daß ASS die Prostaglandinsynthese von Thrombocyten hemmt. Mit der spektralphotometrischen Messung der Malonyldialdehyd-Produktion wurde diese Synthese-Hemmung indirekt nachgewiesen. Weiter ging man von der Überlegung aus, daß anhand der Normalisierung der MDA-Produktion an

den nach einmaliger Applikation von ASS folgenden Tagen eine Aussage über die Plättchenüberlebenszeit möglich ist (51, 81, 109, 110). Diese Methode zur Bestimmung der Plättchenüberlebenszeit wurde jedoch nur mit Vorbehalt empfohlen, da durch die für den Test notwendige ASS-Applikation Blutungen hervorgerufen werden können. Besonders bei Erkrankungen, die mit einer gestörten Thrombocyten-Neubildung oder einem beschleunigten Thrombocyten-Abbau einhergehen, könnte dieses zu einer Gefährdung des Patienten führen (66, 117).

Hinsichtlich der Hemmung der MDA-Produktion von Thrombocyten durch ASS sind folgende Zusammenhänge gesichert:

ASS hemmt dir Glykolyse und führt zu einem Abfall von ATP (34, 47), ASS vermindert den Sauerstoffverbrauch und den Glykogengehalt (33). Weiterhin wird der Glukose-Transport durch die Thrombocytenmembran selektiv gehemmt (34), gleiches gilt für die Hexokinaseaktivität (98, 99).

Diese Effekte beeinflussen offensichtlich auch die Thrombin-induzierte MDA-Produktion der Thrombocyten (Thrombin führt zu einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauches der Thrombocyten, zur Stimulierung der aeroben und anaeroben Glykolyse. Außerdem erhöht es die ATP-ase-Aktivität).

Weiter scheint es so zu sein, daß ASS die freien, für die Aggregation notwendigen SH-Gruppierungen im Bereich der Membranproteine acetyliert. Hier-

durch scheint über die Aggregationshemmung die Prostaglandinsynthese verhindert zu werden (48, 85).

Die Messung der Malonyldialdehyd-Produktion hat den Nachteil, methodisch sehr aufwendig zu sein. Bei eigenen Untersuchungen wurde die von v. VOSS (117) modifizierte Methode zur Messung der MDA-Produktion verwendet (s. auch 2.5).

1.4 Aufgabenstellung

Mit der Messung der Thrombocytenretention war der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Thrombocytenfunktion bisher nicht nachweisbar (25, 46, 117, 122).

In dieser Arbeit sollte die Thrombocytenretention - ausgehend von dem von NIESSNER und v. VOSS modifizierten Verfahren nach HELLEM (HELLEM II) - unter folgenden Gesichtspunkten untersucht werden:

1) Welchen Einfluß haben die Antikoagulantien Heparin und Citrat auf die Retention?

2) Welchen Einfluß hat die Kombination der Antikoagulantien Heparin und Citrat auf die Retention?

3) Der Einfluß einer nacheinander in 1 ml-Portionen fraktinierten Bestimmung auf die Retention sollte untersucht werden.

4) Der Einfluß des Mischens von Vollblut mit Antikoagulantien auf die Thrombocytenzahl sollte im Vergleich zum Mischen des Vollbluts mit Phosphatpuffer untersucht werden.

5) Im zweiten Teil der Arbeit sollte untersucht werden, ob mit einem in den Vorversuchen modifizierten Test der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Retention nachweisbar ist.

6) In einem weiteren Schritt sollte untersucht werden, über welchen Zeitraum der ASS-Einfluß auf die Retention nachweisbar ist. Im letzten Teil der Arbeit sollte in einem Doppelblindversuch der ASS-Einfluß auf die Retention und die MDA-Produktion untersucht werden.

2. Methodik

Die Thrombocyten wurden unter dem Lichtmikroskop nach der Methode von FEISSLY und LÜDIN (39) gezählt. Alle Untersuchungen wurden von einem Untersucher doppelt ausgeführt. Die angegebenen Thrombocytenzahlen entsprechen dem arithmetischen Mittel der erhaltenen Doppelwerte.

Zur Bestimmung des Retentionswertes wurden die Thrombocyten vor und nach Passage des Glasperlenschlauches ("ThromboScreen Rot", Fa. Systron, Wiesbaden) gezählt. Als Thrombocytenzahl pro µl vor Passage wurde die Thrombocytenzahl im Venenblut, bzw. die Thrombocytenzahl im Venenblut nach Mischung mit den angegebenen Antikoagulantien,

genommen.

Die Blutabnahme erfolgte - soweit nicht anders angegeben - mit einer Perfusor-Spritze (50 ml, Fa. Braun, Melsungen) und einer Stahlkanüle Nr. 1. Es wurde die Vena cubitalis punktiert.

Die verwendeten Antikoagulantien wurden vor der Blutabnahme in der Perfusor-Spritze vorgelegt und bei Verwendung von zwei Antikoagulantien (Heparin und Citrat) durch mehrmaliges Schwenken der Spritze vermischt. Der Kolben der verwendeten Spritze wurde soweit vorgeschoben, daß die vorgelegte Flüssigkeit den Innenraum der Spritze bis zum Kanülen-Ansatz luftblasenfrei ausfüllte.

Die Blutabnahme erfolgte nach Punktion durch langsames, luftblasenfreies Zurückziehen des Spritzenstempels bis zur 10 ml-Markierung der Spritze. Anschließend erfolgte zur gleichmäßigen Durchmischung des Blutes mit den vorgelegten Antikoagulantien ein mehrmaliges Schwenken der Perfusorspritze.

Zur Bestimmung der Thrombocytenzahl pro µl vor Passage des Glasperlenschlauches wurde 1 ml des Blutes, bzw. des mit Antikoagulantien vermischten Blutes, in einem EDTA-Röhrchen aufgefangen. Danach wurde die Spritze in den Perfusor eingesetzt und der Perfusor auf Stufe 10 eingeschaltet. Bei dieser Einstellung des Perfusors lag die Durchflußmenge bei 3,9 ml pro Minute.

Die Bestimmung der Thrombocytenzahl pro µl nach

Passage erfolgte ebenfalls aus kalibrierten EDTA-Röhrchen, in denen das Blut nach Passage des Glasperlenschlauches fraktioniert in 1 ml-Portionen aufgefangen wurde.

Zur Berechnung der Retention wurde folgende Formel angewandt:

$$\text{Retention } (\%) = \frac{n_a - n_b}{n_a} \times 100$$

Hierbei bedeuten n_a die Thrombocytenzahl pro µl vor Passage des Schlauches und n_b die Thrombocytenzahl pro µl nach Passage des Schlauches.

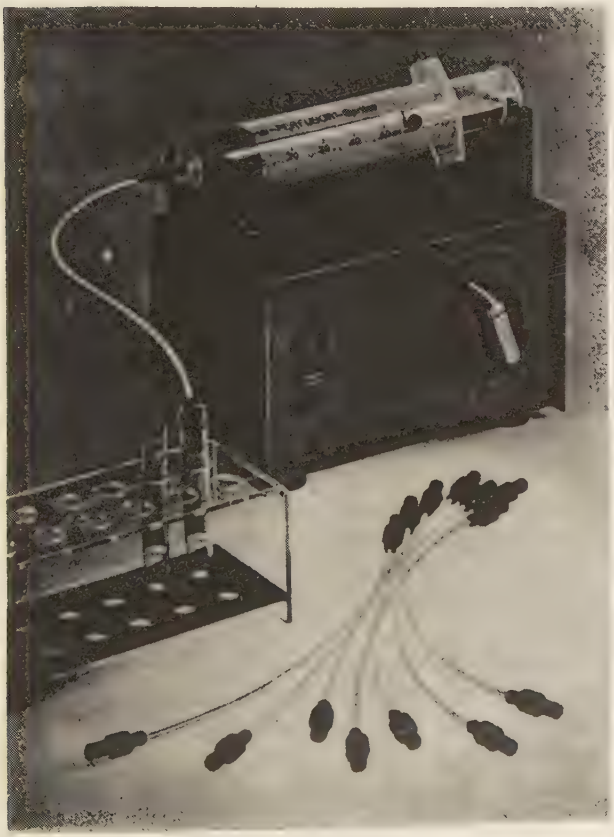
Das verwendete Heparin stammte - soweit nicht anders angegeben - von der Firma Hoffmann-La Roche (Liquemin^R 5000); als Verdünnungsmittel diente Phosphatpuffer (P_H 7,4). Weiterhin wurde Natriumcitrat (3,8%) verwendet. Als Pumpe diente der Perfusor der Firma Braun, Melsungen (Type 371100). Es wurden die dazugehörigen 50 ml-Perfusorspritzen derselben Firma verwendet (Best.-Nr. 872881) (s. Abb. 1).

2.1 Untersuchung der Thrombocytenretention in Nativblut

Zur Überprüfung der bereits routinemäßig verwendeten Methode der Retentionsmessung wurde an 20 Normalpersonen die Retention in der ersten 1 ml-Portion in Nativblut nach der Methode von HELLEM (52) in der Modifikation von NIESSNER (79) und v. VOSS (117) gemessen (s. Tab. 1).

Abbildung 1:

Modifizierter Retentionstest nach HELLEM
("ThromboScreen Rot")



2.2 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien in Vollblut

Es wurde die Retention in Vollblut untersucht, das mit Heparin oder Citrat bzw. einer Mischung beider Antikoagulantien ungerinnbar gemacht wurde.

Zur Herstellung verdünnter Heparin-Lösung wurde zunächst das verwendete Heparin mit Phosphatpuffer im Verhältnis von 1:50 verdünnt, so daß eine Heparin-Konzentration von 100 I.E.Heparin/ml verdünnter Lösung resultierte. Von dieser Lösung wurden 0,5 ml in der Perfusor-Spritze vorgelegt. Zur Herstellung von Citratblut wurde in der Perfusor-Spritze 1 ml Citrat vorgelegt. Somit ergaben sich für die Untersuchungen im einzelnen folgende Antikoagulantien-Konzentrationen:

a) Bei ausschließlicher Verwendung von Heparin:
5,3 I.E./ml Blut
Diese Konzentration errechnet sich wie folgt:
0,5 ml verdünnte Heparin-Lösung = 50 I.E.,
dazu wurden 9,5 ml Blut aufgezogen.

$$\frac{50 \text{ I.E.}}{9{,}5 \text{ ml}} = 5{,}3 \text{ I.E./ml Blut}$$

b) Bei ausschließlicher Verwendung von Citrat:
1 ml Citrat wurde mit 9 ml Blut gemischt, daraus ergab sich ein Verdünnungsverhältnis von 1:9 (Citrat:Blut).

c) Bei Verwendung von Heparin und Citrat:
0,5 ml verdünnte Heparin-Lösung (= 50 I.E.

Heparin) + 1 ml Citrat wurden mit 8,5 ml Blut gemischt. Daraus ergab sich eine Heparin-Konzentration von 5,9 I.E. Heparin/ml Blut sowie ein Verdünnungsverhältnis für Citrat von 1:8,5 (Citrat:Blut).

Um die Gesamtmenge der Antikoagulantien-Blut-Mischung konstant zu halten (10 ml), wurden die geringfügig verschiedenen Konzentrationen der verwendeten Antikoagulantien in Kauf genommen.

Die Thrombocytenzahlen wurden - soweit nicht anders angegeben - aus dem mit Antikoagulantien vermischten Blut bestimmt, so daß die wahren Zahlen um den Verdünnungsfaktor höher anzusetzen sind.

2.2.1 Als Antikoagulans diente Heparin in einer Konzentration von 5,3 I.E./ml Blut. Es wurde die Retention in einzeln aufgefangenen 1 ml-Portionen bis zum Gerinnen des Blutes im Glasperlenschlauch bestimmt (s. Tab. 2 und 3).

2.2.2 Im Unterschied zur vorhergehenden Methode wurde hier ein Antikoagulantiengemisch aus Heparin und Citrat verwendet. Die Konzentration des Heparins betrug 5,9 I.E./ml Blut. Das Citrat wurde im Verhältnis von 1:8,5 (Citrat:Blut) verdünnt. Sonst wurde genau wie in 2.2.1 beschrieben vorgegangen (s. Tab. 4 und 5 sowie Abb. 2).

2.2.3 Es wurde die Thrombocytenzahl vor Passage des Glasperlenschlauches bestimmt
a) bei Mischung des Blutes mit dem beschriebenen

Antikoagulantiengemisch
b) bei Mischung des Blutes mit Phosphatpuffer.

Die Menge des zugesetzten Phosphatpuffers (1,5 ml) entsprach genau der Menge des zugesetzten Antikoagulantiengemisches (s. Tab. 6).

2.3 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure in Vollblut

In diesem Teil der Arbeit wurde die Retention nach Applikation von Acetylsalicylsäure untersucht. Die Einzeldosis betrug in allen Fällen 1 g ASS. Diese wurde in Tablettenform (ASPIRIN^{R}) einmalig peroral appliziert.

Mit Ausnahme der ersten Untersuchung (2.3.1) wurde in allen folgenden Untersuchungen die oben beschriebene Antikoagulantienmischung aus Heparin und Citrat (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) verwendet (s. 2.2.1 und 2.2.2).

2.3.1 Bei dieser Untersuchung wurde als alleiniges Antikoagulans Citrat verwendet. Es wurde die Retention vor ASS-Applikation sowie vier Stunden nach ASS-Applikation gemessen. Dabei erfolgte die Retentionsmessung aus der 2., 3. und 4. 1 ml-Portion (s. Tab. 7 - 10).

2.3.2 Im Unterschied zu der vorhergehenden Untersuchung wurde hier die Heparin-Citrat-Antikoagulantien-

mischung verwendet. Sonst war das Vorgehen wie in 2.3.1 beschrieben (s. Tab. 11 - 15 sowie Abb. 3).

2.3.3 Bei diesem Versuch wurde die Retention in der vierten 1 ml-Portion bestimmt. Die Messungen erfolgten vor ASS-Applikation sowie 30, 60, 120 und 240 Minuten nach ASS-Applikation (s. Tab. 16 - 19 sowie Abb. 4).

2.3.4 Es wurde die Retention in der vierten 1 ml-Portion bestimmt. Die Untersuchungen erfolgten vor ASS-Applikation sowie in 24stündigen Abständen nach ASS-Applikation. Die Untersuchungen erfolgten bis zur Normalisierung bzw. annähernden Normalisierung der Retentionswerte (s. Tab. 20 - 23).

2.4 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

In zwei Doppelblindversuchen wurde der Einfluß von Acetylsalicylsäure bzw. Placebo auf die Retention untersucht. Es wurde die Retention in der vierten 1 ml-Portion vor ASS- bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach ASS- bzw. Placebo-Applikation untersucht. Wie in den Vorversuchen betrug die ASS-Dosis 1 g peroral. Die Placebo-Tabletten wurden ebenfalls peroral appliziert.

2.4.1 Im Unterschied zu den Vorversuchen wurde bei die-

sem Doppelblindversuch ein anderes Heparin-Präparat verwendet (VETREN^{R}, Fa. Promonta). 2 ml dieses Präparats enthalten 200 I.E. Heparin. Es wurden jeweils 0,5 ml dieses Präparates in der Perfusor-Spritze vorgelegt. Damit war sowohl die Menge als auch die Zahl der Einheiten (50 I.E. pro Perfusor-Spritze) gleich hoch wie in den Vorversuchen. An der Citrat-Konzentration wurde keine Änderung vorgenommen.

Eine weitere Modifikation gegenüber den Vorversuchen bestand in der Verwendung einer anderen Punktionskanüle. Anstelle der in den Vorversuchen verwendeten Stahlkanüle Nr. 1 wurde eine Flügelkanüle mit einem Durchmesser von 0,7 mm (Microflex, Fa. Vygon, Art.-Nr. 246.07) verwendet (s. Tab. 24 und 25).

2.4.2 Bei dem zweiten Doppelblindversuch wurde die gleiche Methode wie in den Vorversuchen angewendet. Es wurde also die mit Phosphatpuffer verdünnte Heparin-Lösung verwendet. Zur Punktion diente eine Stahlkanüle Nr. 1 (s. Tab. 27 - 30 sowie Abb. 5).

2.5 Untersuchung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten unter Einfluß von Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

Parallel zu den in 2.4 beschriebenen Untersuchungen erfolgte an denselben Probanden unter denselben Bedingungen die Messung der Malonyldialdehyd-Produktion (MDA-Produktion) der Thrombocyten (s.

Tab. 26, 31 und 32 sowie Abb. 5). Für die Messung der MDA-Produktion wurde die von v. VOSS (117) angegebene Mikromethode verwendet. Es wurde die MDA-Produktion bei Inkubation mit Phosphatpuffer sowie bei Inkubation mit Thrombin (5 I.E.) registriert. Folgende Reagenzien wurden für die Messung benötigt:

Phosphatpuffer (0,15 M, P_H 7,4)
2-Thiobarbitursäure 0,53 %
Perchlorsäure 70 %
Thrombin.

Die spektralphotometrische Messung erfolgte mit dem Spektralphotometer PM-4 der Firma Carl Zeiss.

Venös entnommenes Blut (5 ml 1:10 verdünnt mit Na-Citrat) wurde bei 22°C und 128 g über 20 Minuten zentrifugiert. Das plättchenreiche Plasma (PRP) wurde nach Thrombocytenzählung in je 200 µl-Portionen geteilt. Hierbei wurde mit EPPENDORF-Röhrchen gearbeitet.

Die 200 µl-Proben wurden erneut bei 600 g über 20 Minuten zentrifugiert. Man erhielt hierdurch plättchenarmes Plasma (PAP) und in jedem Röhrchen einen Thrombocytenpfropf. Das überstehende PAP wurde abgegossen. Die Röhrchen wurden anschließend für 2 Minuten mit der Öffnung nach unten auf einen Tupfer gestellt, um dadurch restliches PAP zu entfernen.

Der Plättchenpfropf der ersten Probe (= Spontanwert) wurde dann mit 200 µl Phosphatpuffer inkubiert. Vor Zugabe des Phosphatpuffers wurde der

Plättchenpfropf vorsichtig von der Röhrchenwand gelöst.

Der Plättchenpfropf der zweiten Probe wurde mit Phosphatpuffer und Thrombin inkubiert und damit die MDA-Produktion nach Stimulation mit Thrombin untersucht. Das Thrombin wurde mit 200 µl Phosphatpuffer gelöst. Es wurde eine Thrombinkonzentration von 5 I.E. verwendet.

Die beiden Proben wurden nach Zugabe des jeweiligen Agens verschlossen und 60 Minuten bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 200 µl 0,53 %iger Thiobarbitursäure und sorgfältiger Durchmischung mit einem Schüttler unterbrochen. Thiobarbitursäure geht mit Malonyldialdehyd eine Komplexbindung ein. Thiobarbitursäure war in 2,3 %iger Perchlorsäure gelöst, wodurch es zusätzlich zu einer Eiweißfällung kommt.

Die Proben wurden anschließend 15 Minuten in kochendem Wasser erhitzt und nach Abkühlung bei 600 g über 15 Minuten zentrifugiert. Der chromogen gefärbte Überstand wurde bei 532 nm im Spektralphotometer gegen destilliertes Wasser gemessen. Der Meßwert entsprach der Extinktion für Malonyldialdehyd der Meßprobe.

Die Konzentration von MDA wurde nach folgender Formel berechnet:

$$C = \frac{E}{\varepsilon \cdot d}$$

E : Extinktion

ε : Absorptionskoeffizient
$= 1{,}37 \times 10^5$ [cm^2/Mol]

d : Schichtdicke der Küvette (cm)

An folgendem Zahlenbeispiel soll die Berechnung dargestellt werden:

$E_{Probe} = 0{,}037$

$\varepsilon = 1{,}37 \times 10^5$

$d = 1{,}0$

$$C = \frac{0{,}037}{1{,}37 \times 10^5} = 0{,}027 \times 10^{-5} \text{ Mol MDA/l} = 0{,}027 \times 10^{-8} \text{ Mol MDA/ml}$$

Nach den Angaben in der Literatur wird MDA in nMol/10^9 Thrombocyten angegeben. Es wird angenommen, daß durch die Zentrifugation bei 600 g über 20 Minuten alle Thrombocyten des PRP im Thrombocytenpfropf enthalten sind. Bei einer angenommenen Plättchenzahl von 348 000/ µl waren demnach in 2,0 ml 696 000/10^6 Thrombocyten enthalten. Unter Berücksichtigung dieser Bezugsgröße ergab sich für die Berechnung folgende Umformung:

$$C = \frac{0{,}027 \times 10^{-8}}{696} \text{ Mol MDA/}10^6 \text{ Thrombocyten}$$

$$C = \frac{0{,}027 \times 10^{-8} \times 10^3}{696} \text{ Mol MDA/}10^9 \text{ Thrombocyten}$$

$C = 0{,}387$ nMol/10^9 Thrombocyten

(modifiziert nach v. VOSS)

2.6 Auswahl der Probanden

Für die Untersuchungen standen freiwillige Probanden im Alter von 20 bis 30 Jahren zur Verfügung. Bei diesen Probanden bestand anamnestisch kein Hinweis auf eine Blutungsneigung. Alle untersuchten Probanden hatten mindestens zwei Wochen vor dem jeweiligen Untersuchungstermin keine Medikamente zu sich genommen, die die Hämostase beeinflussen können (ASS, Antikonzeptiva usw.). Eine Infektion bestand längere Zeit nicht.

3. Ergebnisse

3.1 Untersuchung der Thrombocytenretention in Nativblut

Bei der Retentionsmessung nach der HELLEM-II-Methode in der Modifikation von NIESSNER und v. VOSS ergab sich bei 20 Probanden ein mittlerer Retentionswert von 93,1% bei einer Standardabweichung von 2,3%. Der niedrigste gemessene Wert lag bei 89,9%, der höchste Wert betrug 97,3% (s. Tab. 1).

3.2 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien in Vollblut

Die Untersuchungen der Thrombocytenretention sowohl bei Verwendung von Heparin als alleinigem Antikoagulans als auch bei Verwendung eines

Heparin-Citrat-Gemisches wurden an denselben 5 Probanden durchgeführt. Die Doppelwerte sämtlicher Thrombocytenzählungen wichen voneinander um nicht mehr als maximal 6,6% ab.

3.2.1 Bei ausschließlicher Verwendung von Heparin ergaben sich vor Passage des Glasperlenschlauches Plättchenzahlen zwischen 195 000/ µl und 237 000/ µl ($\bar{x}$: 215 000 ,s : 18 100). Die Retention konnte bei einem Probanden bis zur siebten 1 ml-Portion, bei zwei weiteren Probanden bis zur fünften 1 ml-Portion bestimmt werden. Bei zwei Probanden war lediglich eine Retentionsbestimmung bis zur vierten 1 ml-Portion möglich. Der begrenzende Faktor war dabei in allen Fällen das Gerinnen des Blutes im Glasperlenschlauch, so daß keine weiteren Proben aufgefangen werden konnten. In der ersten 1 ml-Portion war die Retention mit einem Mittelwert von 88,2% (s:5,4%) niedriger als in den folgenden Proben, die sich nur geringfügig voneinander unterschieden (2.ml: $\bar{x}$:97,2%; 3.ml:$\bar{x}$:98,8%; 4.ml:$\bar{x}$:97,3%). Die maximale Standardabweichung bei diesen Proben betrug 2,1% (s. Tab. 2 und 3).

3.2.2 Bei Verwendung eines Antikoagulantienmischung aus Heparin und Citrat lagen die Thrombocytenzahlen bei denselben Probanden wie im Vorversuch zwischen 198 000/ µl und 214 000/ µl ($\bar{x}$:207 600, s:6 500). Die Retentionswerte konnten in vier Fällen bis zur siebten 1 ml-Portion bestimmt werden, in einem Fall war eine Bestimmung lediglich bis zur sechsten 1 ml-Portion möglich. Durch das Gerinnen des Blutes im Glasperlenschlauch war

ein Auffangen weiterer Proben nicht möglich.

Gegenüber der ausschließlichen Heparin-Antikoagulation im Vorversuch ergaben sich niedrigere Retentionswerte. In der ersten 1 ml-Portion betrug die mittlere Retention 16,1% (s:4,7%). In der zweiten 1 ml-Portion betrug der mittlere Retentionswert 30,5% (s:11,9%), in der dritten 1 ml-Probe ergab sich ein Mittelwert von 46,3% (s: 12,9%), in der vierten 1 ml-Probe betrug der Mittelwert 59,4% (s:22,4%) (s. Tab. 4 und 5 sowie Abb. 2).

3.2.3 An fünf Probanden wurden die Thrombocytenzahlen vor Passage des Glasperlenschlauches vergleichend

a) bei Mischung des Blutes mit einem Heparin-Citrat-Gemisch und
b) bei Mischung des Blutes mit Phosphatpuffer in derselben Menge bestimmt.

Bei Mischung mit Antikoagulantien lagen die Thrombocytenzahlen zwischen 165 000/ µl und 212 000/ µl ($\bar{x}$:193 400, s:21.200). Bei Mischung mit Phosphatpuffer ergaben sich Werte zwischen 171 000/ µl und 214 000/ µl ($\bar{x}$:195 400, s:16 500). Bei einer Standardabweichung von 5,4% lagen damit die Plättchenzahlen bei Phosphatpuffer-Mischung um 1,1% höher als bei Mischung des Blutes mit Antikoagulantien (s. Tab. 6).

Tabelle 1:

Retention in Nativblut in der ersten 1 ml-Probe, n = 20

Proband	Alter	Geschlecht	Thrombocyten x 10^3/ µl vor Passage	nach Passage	Retention (%)
N.D.	27	m	218	17	92,2
H.B.	25	m	192	13	93,2
R.G.	26	w	186	5	97,3
G.E.	23	m	175	16	90,9
B.Y.	25	m	198	7	96,5
B.B.	24	w	232	22	90,5
B.H.	24	w	219	18	91,8
K.H.	23	w	212	19	91,0
K.R.	28	w	186	8	95,7
R.K.	28	m	204	20	90,2
D.N.	28	m	242	14	94,2
M.B.	23	w	204	10	95,1
J.F.	23	m	224	8	96,4
J.H.	20	w	306	31	89,9
M.S.	21	w	250	20	92,0
M.E.	22	m	231	13	94,4
S.E.	24	m	231	16	93,1
C.S.	23	w	241	23	90,5
J.T.	29	m	197	12	93,9
M.v.B.	27	m	213	16	92,5
Mittelwert	24,7		218,1	15,4	93,1
Standardabweichung	2,5		29,3	6,3	2,3

Tabelle 2:

Thrombocytenzahlen in einzeln aufgefangenen 1 ml-Portionen in antikoaguliertem Blut (5,3 I.E. Heparin/ml Blut), n = 5

Proband	Alter	Geschlecht	Thrombocyten x 10^3/ µl								
			vor P.	nach P.							
				1.ml	2.ml	3.ml	4.ml	5.ml	6.ml	7.ml	8.ml
J.F.	23	m	195	38	12	4	8	1	1	1	geronnen
N.D.	26	m	231	20	6	2	0	0	geronnen		
A.F.	24	m	237	17	5	4	2	geronnen			
C.N.	23	m	204	31	3	2	9	1	geronnen		
N.H.	24	m	208	17	4	1	9	geronnen			
Mittelwert	24		215	24,6	6	2,6	5,6				
Standardabweichung	1,2		18,1	9,5	3,5	1,3	4,3				

vor P. : vor Passage des Glasperlenschlauches
nach P.: nach Passage des Glasperlenschlauches

Tabelle 3:

Retention in einzeln aufgefangenen 1 ml-Portionen in antikoaguliertem Blut (5,3 I.E. Heparin/ml Blut), n = 5

Proband	Retention (%)							
	1.ml	2.ml	3.ml	4.ml	5.ml	6.ml	7.ml	8.ml
J.F.	80,5	93,9	97,9	95,9	99,5	99,5	99,5	-
N.D.	91,3	97,4	99,1	100	100	-	-	-
A.F.	92,8	97,9	98,3	99,2	-	-	-	-
C.N.	84,8	98,5	99,0	95,6	99,5	-	-	-
N.H.	91,8	98,1	99,5	95,7	-	-	-	-
Mittelwert	88,2	97,2	98,8	97,3	-	-	-	-
Standardabweichung	5,4	1,9	0,6	2,1	-	-	-	-

Tabelle 4:

Thrombocytenzahlen in einzeln aufgefangenen 1 ml-Portionen in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5), n = 5

Proband	Thrombocyten x 10^3/ µl								
	vor P.	1.ml	2.ml	3.ml	4.ml	5.ml	6.ml	7.ml	8.ml (nach P.)
J.F.	208	172	140	131	125	117	117	119	geronnen
N.D.	213	166	114	89	46	11	7	geronnen	
A.F.	214	177	180	142	142	113	50	32	geronnen
C.N.	205	186	133	78	33	3	4	0	geronnen
N.H.	198	169	154	117	77	63	10	6	geronnen
Mittelwert	207,6	174	144,2	111,4	84,6	61,4	37,6	-	-
Standard-abweichung	6,5	7,8	24,7	27,2	47,8	54,1	48,2	-	-

vor P.: vor Passage des Glasperlenschlauches
nach P.: nach Passage des Glasperlenschlauches

Tabelle 5:

Retention in einzeln aufgefangenen 1 ml-Portionen in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5), n = 5

Proband	Retention (%)							
	1.ml	2.ml	3.ml	4.ml	5.ml	6.ml	7.ml	8.ml
J.F.	17,3	32,7	37,0	39,9	43,8	43,8	42,8	-
N.D.	22,1	46,5	58,2	78,4	94,8	96,7	-	-
A.F.	17,3	15,9	33,6	33,6	47,2	76,6	85,0	-
C.N.	9,3	35,1	62,0	83,9	98,5	98,0	100	-
N.H.	14,6	22,2	40,9	61,1	68,2	94,4	96,7	-
Mittelwert	16,1	30,5	46,3	59,4	70,5	81,9	-	-
Standard-abweichung	4,7	11,9	12,9	22,4	25,7	23,0	-	-

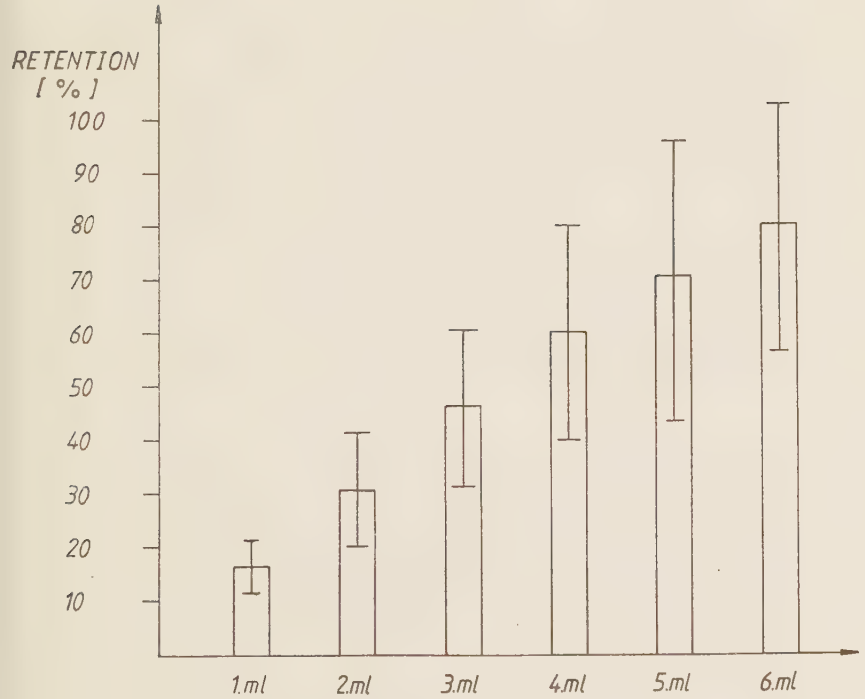
Tabelle 6:

Thrombocytenzahlen bei Mischung des Blutes a) mit Antikoagulantien und b) mit Phosphatpuffer, n = 5

Proband	Alter	Geschlecht	Thrombocyten x 10^3/ µl		Änderung (%)
			Antikoagulantien	Phosphatpuffer	
E.G.	24	w	202	214	+5,6
K.R.	27	w	211	200	-5,5
D.N.	27	m	165	171	+3,5
B.B.	25	w	177	188	+5,9
B.W.	24	w	212	204	-3,9
Mittelwert	25,4		193,4	195,4	+1,1
Standard-abweichung	1,5		21,2	16,5	5,4

Abbildung 2:

Retention in der ersten bis sechsten 1 ml-Portion (Heparin-Citrat-Blut)



3.3 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure in Vollblut

3.3.1 Bei dieser Untersuchung wurde nur Citrat als Antikoagulans verwendet. An fünf Probanden wurde die Retention in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion untersucht. Die Retention wurde vor ASS-Applikation sowie vier Stunden danach untersucht.

Vor ASS-Applikation lagen die Plättchenzahlen zwischen 164 000/ µl und 271 000/ µl ($\bar{x}$: 221 800, s:38 100). Die Retention lag in der zweiten 1 ml-Probe im Mittel bei 15,4% (s:7,1%), in der dritten 1 ml-Probe betrug der Wert 23,8% (s:11,1%), in der vierten 1 ml-Portion stieg der Mittelwert auf 31,8% (s:25,2%).

Vier Stunden nach ASS-Applikation ergaben sich Plättchenzahlen zwischen 160 000/ µl und 239 000/ µl ($\bar{x}$:218 400, s:33 200).

Bei den Retentionsmessungen ergab sich in einem Fall (Proband C.S.) eine negative Retention von -1,3%. Da es sich hierbei wahrscheinlich um einen Zählfehler handelte (die Doppelwerte der Thrombocytenzählungen ergaben Differenzen bis zu 6,6%), wurde dieser Wert bei der Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung als 0 gerechnet.

Vier Stunden nach ASS-Applikation wurde in der zweiten 1 ml-Portion eine mittlere Retention von 20,7% (s:18,5%), in der dritten 1 ml-Portion eine

mittlere Retention von 21,7% (s:13,2%) und in der vierten 1 ml-Portion eine mittlere Retention von 34,2% (s:29,7%) gemessen (s. Tab. 7 - 10).

3.3.2 Im Unterschied zum Vorversuch wurde hier an 10 Probanden die Retention bei Verwendung eines Heparin-Citrat-Gemisches untersucht. Sonst blieb der Versuchsaufbau gleich.

Vor ASS-Applikation lagen die Plättchenzahlen zwischen 188 000/ µl und 272 000/ µl ($\bar{x}$:226 700, s:29 600). Die Retention betrug in der zweiten 1 ml-Portion im Mittel 41,1% (s:7,9%), in der dritten 1 ml-Portion 54,1% (s:16,6%), in der vierten 1 ml-Portion 75,7% (s:17,4%).

Vier Stunden nach ASS-Applikation ergaben sich Plättchenzahlen zwischen 169 000/ µl und 259 000/ µl ($\bar{x}$:208 900, s:30 400). In der zweiten 1 ml-Probe betrug der Retentionsmittelwert 19,7% (s:9,6%), in der dritten 1 ml-Probe 33,1% (s:13,5%), in der vierten 1 ml-Probe 47,3% (s:12,7%).

Somit war nach ASS-Applikation die Thrombocytenzahl im Mittel um 7,9% (s:5,6%) niedriger als vor ASS-Applikation. Für die Retention ergaben sich nach ASS-Applikation ebenfalls niedrigere Werte. Für die Retention in der zweiten 1 ml-Probe ergab sich eine mittlere Differenz von 21,5% (s:10,8%), für die dritte 1 ml-Probe ergab sich eine mittlere Differenz von 21,1% (s:19,4%), für die vierte 1 ml-Probe 28,3% (s:12,5%) (s. Tab. 11 - 15 sowie Abb. 3).

Tabelle 7:

Thrombocytenzahlen in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (Citrat im Verhältnis von 1:9) vor Applikation von 1 g ASS peroral, n=5

Proband	Alter	Geschlecht	Thrombocyten x $10^3/\mu l$			
			vor Passage	2.ml	3.ml	4.ml
R.H.	23	m	271	236	225	251
C.S.	23	w	224	179	202	195
J.F.	23	m	221	205	171	160
B.B.	24	w	164	123	109	97
J.B.	25	m	229	202	146	68
Mittelwert	23,6		221,8	189	170,6	154,2
Standard-abweichung	0,9		38,1	42,1	45,7	73,8

Tabelle 8:

Retention in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (Citrat im Verhältnis von 1:9) vor Applikation von 1 g ASS peroral, n=5

Proband	Retention (%)		
	2.ml	3.ml	4.ml
R.H.	12,9	17,0	7,4
C.S.	20,1	9,8	12,9
J.F.	7,2	22,6	27,6
B.B.	25,0	33,5	40,9
J.B.	11,8	36,2	70,3
Mittelwert	15,4	23,8	31,8
Standard-abweichung	7,1	11,1	25,2

Tabelle 9:

Thrombocytenzahlen in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (Citrat im Verhältnis von 1:9) 4 Stunden nach einmaliger Applikation von 1 g ASS peroral, n=5

Proband	Thrombocyten x 10^3/ µl			
	vor Passage	2.ml	3.ml	4.ml
R.H.	238	212	214	219
C.S.	225	228	210	167
J.F.	239	202	172	187
B.B.	160	113	120	112
J.B.	230	120	141	34
Mittelwert	218,4	175	171,4	143,8
Standard-abweichung	33,2	54,3	41,4	72,7

Tabelle 10:

Retention in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (Citrat im Verhältnis von 1:9) 4 Stunden nach einmaliger Applikation von 1 g ASS peroral, n = 5

Proband	Retention (%)		
	2.ml	3.ml	4.ml
R.H.	10,9	10,1	8,0
C.S.	0(-1,3)	6,7	25,8
J.F.	15,5	28,0	21,8
B.B.	29,4	25,0	30,0
J.B.	47,8	38,7	85,2
Mittelwert	20,7	21,7	34,2
Standard-abweichung	18,5	13,2	29,7

Tabelle 11:

Thrombocytenzahlen in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor Applikation von 1 g ASS peroral, n = 10

Proband	Alter	Geschlecht	Thrombocyten x 10^3/ µl			
			vor Passage	2.ml	3.ml	4.ml
N.D.	26	m	202	115	79	32
D.N.	27	m	229	148	127	82
C.B.	22	m	240	144	95	34
M.B.	30	m	191	132	147	113
J.F.	23	m	221	139	145	81
B.Y.	25	m	209	131	97	60
N.H.	24	m	188	119	89	56
A.F.	24	m	259	111	57	4
E.G.	24	w	256	124	95	47
M.B.	23	w	272	158	77	9
Mittelwert	24,8		226,7	132,1	100,8	51,8
Standardabweichung	2,3		29,6	15,2	29,7	34,1

Tabelle 12:

Retention in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor Applikation von 1 g ASS peroral, n = 10

Proband	Retention (%)		
	2.ml	3.ml	4.ml
N.D.	43,1	60,1	84,2
D.N.	35,4	44,5	64,2
C.B.	40,0	60,4	85,8
M.B.	30,9	23,0	40,8
J.F.	37,1	34,4	63,3
B.Y.	37,3	53,6	71,3
N.H.	36,7	52,7	70,2
A.F.	57,1	78,0	98,5
E.G.	51,6	62,9	81,6
M.B.	41,9	71,7	96,7
Mittelwert	41,1	54,1	75,7
Standard-abweichung	7,9	16,6	17,4

Tabelle 13:

Thrombocytenzahlen in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) 4 Stunden nach einmaliger Applikation von 1 g ASS peroral, n = 10

Proband	Thrombocyten x $10^3/\mu l$			
	vor Passage	2.ml	3.ml	4.ml
N.D.	196	175	136	104
D.N.	199	124	98	96
C.B.	195	152	81	63
M.B.	169	163	141	128
J.F.	212	189	148	148
B.Y.	201	152	126	98
N.H.	174	143	133	102
A.F.	230	170	142	112
E.G.	254	204	186	105
M.B.	259	198	212	130
Mittelwert	208,9	167	140,3	108,6
Standard-abweichung	30,4	25,3	37,8	23,2

Tabelle 14:

Retention in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) 4 Stunden nach einmaliger Applikation von 1 g ASS peroral, n = 10

Proband	Retention (%)		
	2.ml	3.ml	4.ml
N.D.	10,7	30,6	46,9
D.N.	37,7	50,8	51,8
C.B.	22,1	58,5	67,7
M.B.	3,6	16,6	24,3
J.F.	10,8	30,2	30,2
B.Y.	24,4	37,3	51,2
N.H.	17,8	23,6	41,4
A.F.	26,1	38,3	51,3
E.G.	19,7	26,8	58,7
M.B.	23,6	18,1	49,8
Mittelwert	19,7	33,1	47,3
Standard-abweichung	9,6	13,5	12,7

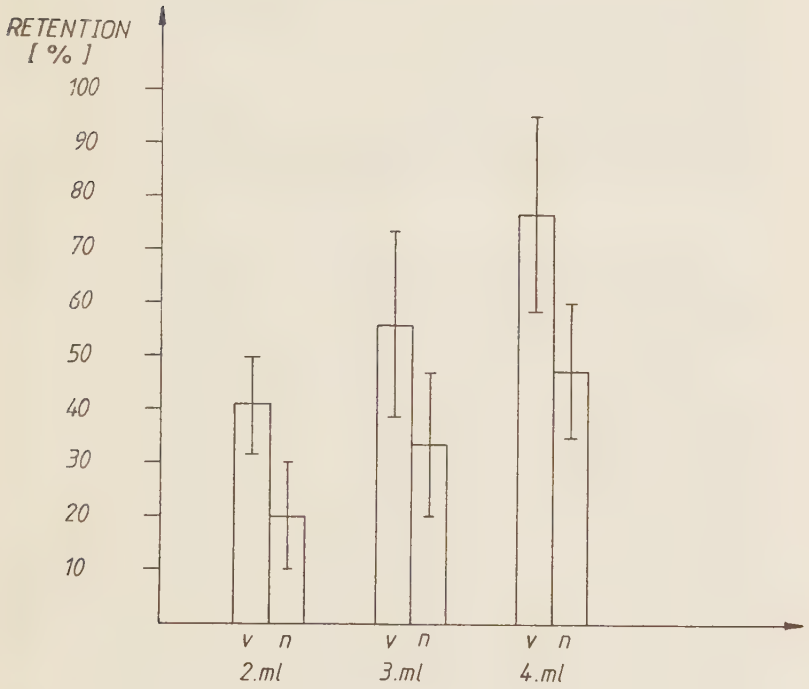
Tabelle 15:

Differenzen der Thrombocytenzahlen und Retention zwischen den Werten vor ASS-Applikation und 4 Stunden nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 10, (vgl. Tab. 11 - 14)

Proband	Änderung der Thrombocytenzahl vor Passage (%)	Änderung der Retention (%) 2.ml	3.ml	4.ml
N.D.	- 3.0	-32,4	-29,5	-37,3
D.N.	-13,1	+ 2,3	+ 6,3	-12,4
C.B.	-18,8	-17,9	- 1,9	-18,1
M.B.	-11,5	-27,3	- 6,4	-16,5
J.F.	- 4,1	-26,3	- 4,2	-33,1
B.Y.	- 3,8	-12,9	-16,3	-20,1
N.H.	- 7,4	-18,9	-29,1	-28,8
A.F.	-11,2	-31,0	-39,7	-47,2
E.G.	- 0,8	-31,9	-36,1	-22,9
M.B.	- 4,8	-18,3	-53,6	-46,9
Mittelwert	- 7,9	-21,5	-21,1	-28,3
Standardabweichung	5,6	10,8	19,4	12,5

Abbildung 3:

Retention in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion vor ASS-Applikation und vier Stunden nach einmaliger peroraler Applikation von 1 g ASS (Heparin-Citrat-Blut)



v: vor ASS-Applikation
n: nach ASS-Applikation

Da die Differenz in der vierten 1 ml-Portion am größten war, wurden die Retentionsbestimmungen in den folgenden Untersuchungen in dieser Probe durchgeführt. Gleichzeitig erfüllten die relativ hohen Retentionswerte in dieser Probe die Forderung nach einem möglichst hohen Ausgangswert, der zur Erkennung von Gerinnungshemmungen im dann zu erwartenden Abfall des Retentionswertes günstig ist.

3.3.3 An fünf Probanden wurde die Retention in der vierten 1 ml-Portion vor ASS-Applikation sowie 30, 60, 120 und 240 Minuten nach ASS-Applikation untersucht.

Vor ASS-Applikation lagen die Plättchenzahlen zwischen 165 000/ µl und 212 000/ µl ($\bar{x}$:193 400, s:21 200). 30 Minuten nach Applikation von Acetylsalicylsäure ergab sich eine im Mittel um 2,4% (s:9,8%) geringere Zahl. 60 Minuten nach ASS-Applikation lag die mittlere Plättchenzahl um 3,7% unter dem Ausgangswert (s:9,5%). 120 Minuten nach ASS-Applikation lag die mittlere Plättchenzahl um 3,1% (s:9,0%) unter dem Ausgangswert, 240 Minuten nach ASS-Applikation wurde eine um 0,2% höhere mittlere Plättchenzahl im Vergleich zum Ausgangswert registriert (s:8,6%).

Vor Applikation von Acetylsalicylsäure ergab sich ein Retentionsmittelwert von 90,1% (s:7,2%). 30 Minuten nach ASS-Applikation betrug der Wert 67,3% (s:24,1%), zu diesem Zeitpunkt ergab sich eine mittlere Differenz zum Ausgangswert von -23,7% (s:21,5%). 60 Minuten nach ASS-Applikation lag

der mittlere Retentionswert bei 56,4% (s:18,8%), zu diesem Zeitpunkt ergab sich eine im Mittel um 34,5% (s:7,0%) niedrigere Retention als vor ASS-Applikation. 120 Minuten nach ASS-Applikation betrug die mittlere Retention 49,1% (s:16,9%) unter dem Ausgangswert. 240 Minuten nach ASS-Applikation betrug der Retentionsmittelwert 41,6% (s:13,9%). Die mittlere Differenz zum Ausgangswert betrug in diesem Fall 49,4% (s:12,8%). Die Differenz zwischen den vor ASS-Applikation gemessenen Retentionswerten und den nach ASS-Applikations gemessenen Werten vergrößerte sich also mit zunehmender Zeitdauer (s. Tab. 16 - 19 sowie Abb. 4).

3.3.4 An fünf Probanden wurde die Retention in der vierten 1 ml-Portion untersucht. Die Messungen erfolgten vor ASS-Applikation sowie in 24stündigen Abständen nach ASS-Applikation.

Vor ASS-Applikation lagen die Plättchenzahlen zwischen 176 000/ µl und 216 000/ µl ($\bar{x}$:196 000/ µl, s:17 300). Nach 24 Stunden lag die Plättchenzahl im Mittel um 0,7% (s:5,9%) niedriger, nach 48 Stunden lag sie um 2,5% (s:4,5%) niedriger als zu Beginn der Untersuchung. Danach stieg die mittlere Plättchenzahl geringfügig wieder an, um nach 144 Stunden den Ausgangswert annähernd wieder zu erreichen (Änderung nach 144 Stunden im Mittel +0,9, s:6,3%).

Die Retention betrug vor ASS-Applikation im Mittel 73,7% (s:8,8%). Nach 24 Stunden betrug dieser Wert 52,9% (s:19,7%), nach 48 Stunden 43,1%

(s:18,9%), nach 72 Stunden 50,5% (s:22,5%), nach 96 Stunden 34,4% (s:22,3%), nach 120 Stunden 49,5% (s:33,7%). Der letzte errechnete Retentionsmittelwert (144 Stunden nach ASS-Applikation) lag bei 60,7% (s:34,5%). Zu diesem Zeitpunkt hatten von den fünf Probanden bereits drei ihre jeweiligen Ausgangswerte annähernd oder vollständig wieder erreicht bzw. überschritten. Aus diesem Grund wurden bei diesen Probanden keine weiteren Retentionsmessungen vorgenommen.

Für die 168 Stunden nach ASS-Applikation und später gemessenen Retentionswerte ließen sich keine Mittelwerte berechnen, da nur noch die Retention von zwei Probanden untersucht wurde. Ein Proband (M.S.) erreichte 240 Stunden nach ASS-Applikation den Ausgangswert wieder, ein weiterer (J.H.) nach 264 Stunden (s. Tab. 20 - 23).

3.4 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

3.4.1 Im ersten Doppelblindversuch wurde an 10 Probanden die Retention in der vierten 1 ml-Probe untersucht. Im Unterschied zu den Vorversuchen wurde das Verfahren in zwei Punkten modifiziert (Verwendung eines anderen Heparin-Präparates, Verwendung einer anderen Punktionskanüle, s. auch 2.4.1). Fünf Probanden wurde Acetylsalicylsäure peroral appliziert, fünf Probanden wurden Placebo-Tabletten peroral appliziert. In der ASS-Gruppe lagen die Plättchenzahlen vor Applikation von

Tabelle 16:

Thrombocytenzahl in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS-Applikation sowie 30, 60, 120 und 240 Minuten nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5

Proband	Alter	Geschlecht	Thrombocyten x 10^3/ µl									
			vor ASS-Appl.		30 Min.n.A.		60 Min.n.A.		120 Min.n.A.		240 Min.n.A.	
			vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP
E.G.	24	w	202	40	220	96	224	121	208	123	221	130
K.R.	27	w	211	16	219	19	206	88	194	150	196	141
D.N.	27	m	165	8	165	19	160	68	180	81	178	112
B.B.	25	w	177	2	159	52	159	39	154	35	160	56
B.W.	24	w	212	25	181	121	183	99	198	100	213	135
Mittelwert	25,4		193,4	18,2	188,8	61,4	186,4	83	186,8	97,8	193,6	114,8
Standardabweichung	1,5		21,2	14,9	29,2	45,9	28,5	31,2	20,9	43,6	25	34,6

vP: vor Passage des Glasperlenschlauches
nP: nach Passage des Glasperlenschlauches
nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 17:

Retention in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS-Applikation sowie 30, 60, 120 und 240 Minuten nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5

Proband	Retention (%)				
	vor ASS-Appl.	30 Min. n.A.	60 Min. n.A.	120 Min. n.A.	240 Min. n.A.
E.G.	80,2	56,4	46,0	40,9	41,2
K.R.	92,4	91,3	57,3	22,7	28,1
D.N.	95,2	88,5	57,5	55,0	37,1
B.B.	98,9	67,3	75,5	77,3	65,0
B.W.	88,2	33,1	45,9	49,5	36,6
Mittelwert	90,1	67,3	56,4	49,1	41,6
Standardabweichung	7,2	24,1	18,8	19,7	13,9

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 18:

Differenzen der Thrombocytenzahlen zwischen den Werten vor ASS-Applikation und den Werten 30, 60, 120 und 240 Minuten nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5 (vgl. Tab. 16)

Proband	Änderung der Thrombocytenzahl vor Passage (%)			
	30 Min. n.A.	60 Min. n.A.	120 Min. n.A.	240 Min. n.A.
E.G.	+ 8,9	+10,9	+ 3,0	+ 9,4
K.R.	+ 3,8	- 2,4	- 8,1	- 7,1
D.N.	0	- 3,0	+ 9,1	+ 7,9
B.B.	-10,2	-10,2	-13,0	- 9,6
B.W.	-14,6	-13,7	- 6,6	+ 0,5
Mittelwert	- 2,4	- 3,7	- 3,1	+ 0,2
Standardabweichung	9,8	9,5	9,0	8,6

nA: nach Applikation von ASS

Tabelle 19:

Differenz der Retention zwischen dem Wert vor ASS-Applikation und den Werten 30, 60, 120 und 240 Minuten nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5 (vgl.Tab.17)

Proband	Änderung der Retention (%)			
	30 Min. n.A.	60 Min. n.A.	120 Min. n.A.	240 Min. n.A.
E.G.	-23,8	-34,2	-39,3	-39,0
K.R.	- 1,1	-35,1	-68,6	-64,3
D.N.	- 6,7	-37,7	-40,2	-58,1
B.B.	-31,6	-23,4	-21,6	-33,9
B.W.	-55,1	-42,3	-38,7	-51,6
Mittelwert	-23,7	-34,5	-41,7	-49,4
Standardabweichung	21,5	7,0	16,9	12,8

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 20:

Thrombocytenzahl in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS-Applikation sowie in 24-stündigen Abständen nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5

Proband	Alter	Geschl.	Thrombocyten x 10^3/ µl											
			vor ASS-A.		24 h n.A.		48 h n.A.		72 h n.A.		96 h n.A.		120 h n.A.	
			vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP
M.S.	21	w	180	53	170	84	174	137	177	126	188	158	185	131
C.S.	23	w	201	50	218	70	198	81	200	40	210	86	214	11
J.H.	20	w	207	82	197	134	215	143	206	131	210	190	220	168
M.E.	20	m	216	35	209	47	197	66	206	64	213	138	216	51
M.B.	30	m	176	38	179	114	171	111	191	118	201	93	171	131
Mittelwert	22,8		196	51,6	194,6	89,8	191	107,6	196	95,8	204,4	133	201,2	98,4
Standard-abweichung	4,2		17,3	18,6	20,1	34,6	18,4	33,8	12,3	41,1	10,2	43,9	21,9	64,9

h n.A.: .. Stunden nach ASS-Applikation
vP : vor Passage des Glasperlenschlauches
nP : nach Passage des Glasperlenschlauches

Tabelle 20a:

Fortsetzung von Tabelle 20

Proband	Thrombocyten x 10^3/ µl											
	144 h vP	n.A. nP	168 h vP	n.A. nP	192 h vP	n.A. nP	216 h vP	n.A. nP	240 h vP	n.A. nP	264 h vP	n.A. nP
M.S.	172	127	187	111	192	118	181	130	188	56	-	
C.S.	205	34	-		-		-		-		-	
J.H.	202	159	216	134	198	147	194	165	192	123	204	76
M.E.	212	8	-		-		-		-		-	
M.B.	196	46	-		-		-		-		-	
Mittelwert	197,4	74,8	-		-		-		-		-	
Standard-abweichung	15,3	64,8	-		-		-		-		-	

Tabelle 21:

Retention in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS-Applikation sowie in 24-stündigen Abständen nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5

Proband	Retention (%)					
	vor ASS-A.	24 h n.A.	48 h n.A.	72 h n.A.	96 h n.A.	120 h n.A.
M.S.	70,6	50,6	21,3	28,8	14,6	29;2
C.S.	75,1	67,9	59,1	80,0	59,0	94,9
J.H.	60,4	32,0	33,5	36,4	9,5	23,6
M.E.	83,8	77,5	66,5	68,9	35,2	76,4
M.B.	78,4	36,3	35,1	38,2	53,7	23,4
Mittelwert	73,7	52,9	43,1	50,5	34,4	49,5
Standard-abweichung	8,8	19,7	18,9	22,5	22,3	33,7

h n.A.: .. Stunden nach ASS-Applikation

Tabelle 21a:

Fortsetzung von Tabelle 21

Proband	Retention (%)					
	144 h n.A.	168 h n.A.	192 h n.A.	216 h n.A.	240 h n.A.	264 h n.A.
M.S.	26,2	40,6	38,5	28,2	70,2	-
C.S.	83,4	-	-	-	-	-
J.H.	21,3	38,0	25,8	14,9	35,9	62,7
M.E.	96,2	-	-	-	-	-
M.B.	76,5	-	-	-	-	-
Mittelwert	60,7	-	-	-	-	-
Standard-abweichung	34,5	-	-	-	-	-

Tabelle 22:

Differenz der Thrombocytenzahlen (vor Passage des Glasperlenschlauches) zwischen dem Wert vor ASS-Applikation und den Werten in 24-stündigen Abständen nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5 (vgl. Tab. 20 und 20a)

Proband	Änderung der Thrombocytenzahl (%)					
	24 h n.A.	48 h n.A.	72 h n.A.	96 h n.A.	120 h n.A.	144 h n.A.
M.S.	- 5,6	- 3,3	- 1,7	+ 4,4	+ 2,8	- 4,4
C.S.	+ 8,5	- 1,5	- 0,5	+ 4,5	+ 6,5	+ 2,0
J.H.	- 4,8	+ 3,9	- 0,5	+ 1,4	+ 6,3	- 2,4
M.E.	- 3,2	- 8.8	- 4,6	- 1,4	0	- 1,9
M.B.	+ 1,7	- 2,8	+ 8,5	+14,2	- 2,8	+11,4
Mittelwert	- 0,7	- 2,5	+ 0,2	+ 4,6	+ 2,6	+ 0,9
Standard-abweichung	5,9	4,5	4,9	5,9	4,0	6,3

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 22a:

Fortsetzung von Tabelle 22

Proband	Änderung der Thrombocytenzahl (%)				
	168 h n.A.	192 h n.A.	216 h n.A.	240 h n.A.	264 h n.A.
M.S.	+ 3,9	+ 6,7	+ 0,6	+ 4,4	-
C.S.	-	-	-	-	-
J.H.	+ 4,3	- 4,3	- 6,3	- 7,2	- 1,4
M.E.	-	-	-	-	-
M.B.	-	-	-	-	-
Mittelwert	-	-	-	-	-
Standard-abweichung	-	-	-	-	-

Tabelle 23:

Differenz der Retention zwischen dem Wert vor ASS-Applikation und den Werten in 24-stündigen Abständen nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral), n = 5 (vgl. Tab. 21 und 21a)

Proband	Änderung der Retention (%)					
	24 h n.A.	48 h n.A.	72 h n.A.	96 h n.A.	120 h n.A.	144 h n.A.
M.S.	-20,0	-49,3	-41,8	-56,0	-41,4	-44,4
C.S.	- 7,2	-16,0	+ 4,9	-16,1	+19,8	+ 8,3
J.H.	-28,4	-26,9	-24,0	-50,9	-36,8	-39,1
M.E.	- 6,3	-17,3	-14,9	-48,6	- 7,4	+12,4
M.B.	-42,1	-43,3	-40,2	-24,7	-55,0	- 1,9
Mittelwert	-20,8	-30,6	-23,2	-39,3	-24,2	-12,9
Standard-abweichung	15,1	15,1	19,3	17,7	30,1	26,9

nA: nach ASS-Applikation

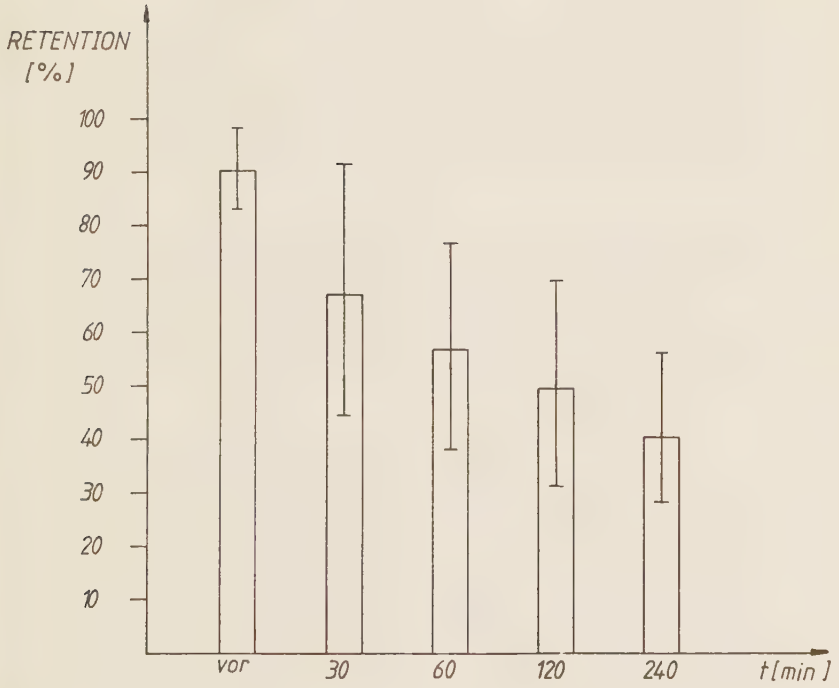
Tabelle 23a:

Fortsetzung von Tabelle 23

Proband	Änderung der Retention (%)				
	168 h n.A.	192 h n.A.	216 h n.A.	240 h n.A.	264 h n.A.
M.S.	-30,0	-32,1	-42,4	- 0,4	-
C.S.	-	-	-	-	-
J.H.	-22,4	-34,6	-45,5	-24,5	+ 2,3
M.E.	-	-	-	-	-
M.B.	-	-	-	-	-
Mittelwert	-	-	-	-	-
Standard-abweichung	-	-	-	-	-

Abbildung 4:

Retention in der vierten 1 ml-Portion vor ASS-Applikation sowie 30, 60, 120 und 240 Minuten nach einmaliger peroraler Applikation von 1 g ASS (Heparin-Citrat-Blut)



Acetylsalicylsäure zwischen 182 000/ µl und 258 000/ µl ($\bar{x}$:221 000/ µl, s:32 000). In der anderen Probandengruppe lagen die Plättchenzahlen vor Placebo-Applikation zwischen 178 000/ µl und 218 000/ µl ($\bar{x}$:197 400, s: 14 000).

Der mittlere Retentionswert der ASS-Gruppe lag vor ASS-Applikation bei 66,1% (s:14,2%), nach 24 Stunden wurde eine mittlere Retention von 35,1% (s:23,3%), nach 48 Stunden von 45,3% (s:47,5%), nach 72 Stunden von 38,5% (s:37,1%) gemessen. 96 Stunden nach ASS-Applikation betrug der Mittelwert 60,7% (s:28,3%), 144 Stunden nach ASS-Applikation ergab sich eine mittlere Retention von 55,2% (s:21,2%).

In einem Fall (H.B., 48 Stunden nach ASS-Applikation) wurde eine geringfügig negative Retention gemessen (-2,2%). Da es sich hierbei wahrscheinlich um einen Zählfehler handelte, wurde bei der Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung dieser Wert als 0 gerechnet.

In der anderen Probanden-Gruppe wurde vor Placebo-Applikation eine mittlere Retention von 55,4% (s:20,9%) gemessen. Nach 24 Stunden betrug der Mittelwert 30,1% (s:8,9%), nach 48 Stunden 57,2% (s:25,1%), nach 72 Stunden 52,1% (s:42,8%). Der Mittelwert bei der letzten Messung, 96 Stunden nach Placebo-Applikation, betrug 64,0% (s:26,9%) (s. Tab. 24 und 25).

3.4.2 Im zweiten Doppelblindversuch wurde an 14 Probanden der Einfluß von Acetylsalicylsäure bzw.

Placebo untersucht. Sieben Probanden erhielten ASS peroral, sieben andere Placebo-Tabletten peroral. Es wurde die gleiche Untersuchungstechnik angewandt wie in den Vorversuchen (mit Ausnahme des ersten Doppelblindversuches), d.h. Bestimmung der Retention in der vierten 1 ml-Portion, Verwendung der Heparin-Citrat-Mischung (Heparin-Verdünnung mit Phosphatpuffer) sowie Verwendung einer Stahlkanüle Nr. 1.

In der ASS-Gruppe lagen die Plättchenzahlen vor Applikation von Acetylsalicylsäure zwischen 165 000/ µl und 250 000/ µl ($\bar{x}$:205 700, s:30 300). Die Plättchenzahlen bewegten sich im weiteren Verlauf der Untersuchung nur geringfügig.

Der mittlere Retentionswert dieser Gruppe lag vor ASS-Applikation bei 78,8% (s:7,8%). Nach 24 Stunden betrug die mittlere Retention 38,4% (s:19,9%), nach 48 Stunden 30,5% (s:13,5%), nach 72 Stunden 30,3% (s:21,0%). 96 Stunden nach ASS-Applikation stieg der Retentionsmittelwert auf 60,8% an (s:31,0%). Nach 144 Stunden ergab sich ein Wert von 70,7% (s:25,4%). Zu diesem Zeitpunkt hatten mit einer Ausnahme alle Probanden ihre jeweiligen Ausgangswerte entweder wieder erreicht bzw. annähernd erreicht oder überschritten.

In der Placebo-Gruppe lagen die Thrombocytenzahlen vor Applikation von Placebo-Tabletten zwischen 175 000/ µl und 230 000/ µl ($\bar{x}$:194 300, s:22 300). Die mittlere Retention lag zu diesem Zeitpunkt bei 77,5% (s:10,8%). Auch bei dieser Gruppe änderten sich die Plättchenzahlen im Ver-

lauf der Untersuchung nur geringfügig.

24 Stunden nach Placebo-Applikation betrug die mittlere Retention 74,5% (s:14,3%). Nach 48 Stunden ergab sich ein Mittelwert von 76,4% (s:16,9%), nach 72 Stunden von 67,1% (s:20,6%). 96 Stunden nach Placebo-Applikation betrug der Mittelwert 75,2% (s:20,6%), bei der letzten Messung nach 144 Stunden ergab sich ein Mittelwert von 73,1% (s:10,8%) (s. Tab. 27 - 30 sowie Abb. 5).

3.5 Untersuchung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten unter Einfluß von Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

Parallel zu der Untersuchung der Retention wurde an denselben Probanden in denselben zeitlichen Abständen die MDA-Produktion der Thrombocyten untersucht. Im folgenden sind die MDA-Werte, die nach Inkubation mit Puffer gewonnen wurden, mit MDA-P bezeichnet. Die MDA-Werte, die nach Inkubation des Blutes mit Puffer und Thrombin gewonnen wurden, sind mit MDA-T bezeichnet.

3.5.1 Im ersten Doppelblindversuch ergaben sich in der ASS-Gruppe vor Applikation von Acetylsalicylsäure folgende Mittelwerte: MDA-P 0,59 nMol/10^9 Thrombocyten (s:0,35 nMol), MDA-T 1,1 nMol/10^9 Th. (s:0,42 nMol). Die entsprechenden Werte betrugen 24 Stunden nach ASS-Applikation für MDA-P 0,39 nMol/10^9 Th. (s:0,15 nMol), für MDA-T 0,5 nMol/10^9 Th. (s:0,16 nMol). Nach 48 Stunden ergaben sich folgende Werte: MDA-P 0,54 nMol/10^9 Th.

(s:0,37 nMol), MDA-T 0,79 nMol/10^9 Th. (s:0,39 nMol); nach 72 Stunden: MDA-P 0,3 nMol/10^9 Th. (s:0,1 nMol), MDA-T 0,44 nMol/10^9 Th. (s:0,13 nMol); nach 96 Stunden: MDA-P 0,34 nMol/10^9 Th. (s: 0,07 nMol), MDA-T 0,59 nMol/10^9 Th. (s:0,09 nMol). Bei der letzten Messung, 144 Stunden nach ASS-Applikation, ergaben sich folgende Werte: MDA-P 0,5 nMol/10^9 Th. (s:0,13 nMol), MDA-T 0,94 nMol/10^9 Th. (s:0,47 nMol).

Bei den Probanden der Placebo-Gruppe ergaben sich vor Placebo-Applikation folgende Werte: MDA-P 0,52 nMol/10^9 Th. (s:0,24 nMol), MDA-T 1,3 nMol/10^9 Th. (s:0,68 nMol). Nach 24 Stunden ergaben sich folgende Werte: MDA-P 0,56 nMol/10^9 Th. (s:0,12 nMol), MDA-T 1,1 nMol/10^9 Th. (s:0,17 nMol); nach 48 Stunden: MDA-P 0,56 nMol/10^9 Th. (s:0,25 nMol), MDA-T 1,2 nMol/10^9 Th. (s:0,49 nMol); nach 72 Stunden: MDA-P 0,57 nMol/10^9 Th. (s:0,2 nMol), MDA-T 1,2 nMol/10^9 Th. (s:0,27 nMol). Bei der letzten Messung der MDA-Produktion, 96 Stunden nach Placebo-Applikation, ergaben sich die folgenden Werte: MDA-P 0,48 nMol/10^9 Th. (s:0,09 nMol), MDA-T 1,1 nMol/10^9 Th. (s:0,29 nMol) (s. Tab. 26).

3.5.2 Im zweiten Doppelblindversuch ergaben sich für die ASS-Gruppe vor Applikation von ASS folgende Werte: MDA-P 0,7 nMol/10^9 Th. (s:0,13 nMol), MDA-T 1,37 nMol/10^9 Th. (s:0,29 nMol).

24 Stunden nach ASS-Applikation ergab sich eine Hemmung der MDA-Produktion von 34,7% (MDA-P, s:35,4%) bzw. 63,1% (MDA-T, s:17,1%). Nach 48

Tabelle 24:

Thrombocytenzahl in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS-Applikation bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation. Doppelblindversuch, n = 10

Gruppe 1 (ASS), n = 5

Proband	Alter	Geschl.	Thrombocyten x $10^3/\mu l$											
			vor ASS-A.		24h n.A.		48h n.A.		72h n.A.		96h n.A.		144h n.A.	
			vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP
C.B.	20	w	220	64	241	225	217	204	229	220	202	114	206	108
U.S.	23	w	258	81	248	98	243	16	261	123	254	30	238	124
M.S.	21	w	198	88	182	139	210	150	202	137	211	132	188	56
J.H.	20	w	247	35	268	113	271	4	253	231	249	13	247	44
H.B.	25	m	182	92	169	123	185	189	174	9	182	110	170	122
Mittelwert	21,8		221	72	221,6	139,6	225,2	112,6	223,8	144	219,6	79,8	209,8	90,8
Standardabweichung	2,2		32	23,3	43,5	50	32,9	95,8	36,1	89,5	31	54,2	32,6	38

nA: nach Applikation von ASS
vP: vor Passage des Glasperlenschlauches
nP: nach Passage des Glasperlenschlauches

Tabelle 24a:

Fortsetzung von Tabelle 24

Gruppe 2 (Placebo), n = 5

Proband	Alter	Geschl.	Thrombocyten x 10^3/ µl											
			vor Placebo		24h n.P.		48h n.P.		72h n.P.		96h n.P.		144h n.P.	
			vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP
B.K.	22	w	182	77	239	159	192	126	201	176	216	140		-
S.E.	24	m	178	138	168	127	181	96	162	128	176	106		-
S.W.	21	w	216	53	200	165	220	131	225	157	204	10		-
C.S.	23	w	218	107	226	142	210	67	213	4	229	85		-
B.B.	25	w	193	57	177	110	173	7	188	2	174	23		-
Mittelwert	23,0		197,4	86,4	202	140,6	195,2	85,4	197,8	93,4	199,8	72,8		-
Standardabweichung	1,6		14	35,9	30,5	22,7	19,6	50,8	24,3	84,3	24,3	55,2		-

n.P.: nach Placebo-Applikation

Tabelle 25:

Retention in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS-Applikation bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS-Applikation (1 g peroral bzw. Placebo-Applikation. Doppelblindversuch, n = 10

Gruppe 1 (ASS), n = 5

Proband	Retention (%)					
	vor ASS-A.	24h n.A.	48h n.A.	72h n.A.	96h n.A.	144h n.A.
C.B.	70,9	6,6	6,0	3,9	43,6	47,6
U.S.	68,6	60,5	93,4	52,9	88,2	47,9
M.S.	55,6	23,6	28,6	32,2	37,4	70,2
J.H.	85,8	57,8	98,5	8,7	94,8	82,2
H.B.	49,5	27,2	0 (-2,2)	94,8	39,6	28,2
Mittelwert	66,1	35,1	45,3	38,5	60,7	55,2
Standard-abweichung	14,2	23,3	47,5	37,1	28,3	21,2

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 25a:

Fortsetzung von Tabelle 25

Gruppe 2 (Placebo), n = 5

Proband	Retention (%)					
	vor Placebo	24h n.P.	48h n.P.	72h n.P.	96h n.P.	144h n.P.
B.K.	57,7	33,5	34,4	12,4	35,2	-
S.E.	22,5	24,4	47,0	21,0	39,8	-
S.W.	75,5	17,5	40,5	30,2	95,1	-
C.S.	50,9	37,2	68,1	98,1	62,9	-
B.B.	70,5	37,9	96,0	98,9	86,8	-
Mittelwert	55,4	30,1	57,2	52,1	64,0	-
Standard-abweichung	20,9	8,9	25,1	42,8	26,9	-

nP: nach Placebo-Applikation

Tabelle 26:

Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten vor ASS-Applikation bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation. Doppelblindversuch, n = 10

Gruppe 1 (ASS), n = 5

Proband	nMol MDA/10^9 Thrombocyten											
	vor ASS-A.		24h n.A.		48h n.A.		72h n.A.		96h n.A.		144h n.A.	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
C.B.	0,33	0,73	0,37	0,49	0,28	0,33	0,20	0,26	0,35	0,52	0,51	1,0
U.S.	0,37	0,83	0,32	0,48	0,39	0,74	0,25	0,36	0,32	0,54	0,29	0,42
M.S.	0,57	1,2	0,65	0,78	1,2	1,4	0,37	0,46	0,36	0,65	0,48	0,56
J.H.	0,47	1,0	0,31	0,38	0,45	0,87	0,25	0,54	0,24	0,52	0,65	1,6
H.B.	1,2	1,8	0,28	0,38	0,38	0,63	0,45	0,58	0,42	0,73	0,57	1,1
Mittelwert	0,59	1,1	0,39	0,5	0,54	0,79	0,3	0,44	0,34	0,59	0,5	0,94
Standard-abweichung	0,35	0,42	0,15	0,16	0,37	0,39	0,1	0,13	0,07	0,09	0,13	0,47

nA: nach ASS-Applikation
P : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer
T : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer und Thrombin

Tabelle 26a:

Fortsetzung von Tabelle 26

Gruppe 2 (Placebo), n = 5

Proband	nMol MDA/10^9 Thrombocyten											
	vor Placebo		24h n.P.		48h n.P.		72h n.P.		96h n.P.		144h n.P.	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
B.K.	0,35	0,66	0,36	0,88	0,37	0,68	0,42	0,88	0,48	0,85	-	
S.E.	0,29	0,71	0,62	1,2	0,48	0,76	0,42	1,4	0,64	1,6	-	
S.W.	0,47	1,1	0,67	1,2	1,0	1,9	0,62	1,5	0,4	1,1	-	
C.S.	0,58	1,8	0,57	0,91	0,45	1,2	0,5	1,0	0,42	0,96	-	
B.B.	0,89	2,2	0,57	1,2	0,51	1,3	0,89	1,3	0,46	1,2	-	
Mittelwert	0,52	1,3	0,56	1,1	0,56	1,2	0,57	1,2	0,48	1,1	-	
Standard-abweichung	0,24	0,68	0,12	0,17	0,25	0,49	0,2	0,27	0,09	0,29	-	

nP: nach Placebo-Applikation
P : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer
T : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer und Thrombin

Tabelle 27:

Thrombocytenzahl in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS- bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation. Doppelblindversuch, n = 14

Gruppe 1 (ASS), n = 7

Proband	Alter	Geschl.	Thrombocyten x $10^3/\mu l$											
			vor ASS-A.		24h n.A.		48h n.A.		72h n.A.		96h n.A.		144h n.A.	
			vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP	vP	nP
M.D.	23	w	200	28	192	89	208	136	190	123	199	115	190	14
C.B.	20	w	250	67	256	211	240	175	242	227	236	24	251	76
S.E.	25	m	165	15	159	143	152	135	155	128	168	67	160	38
B.S.	27	m	240	69	230	149	225	114	242	163	233	39	234	51
B.H.	24	w	180	36	188	83	175	128	172	102	191	123	190	40
A.F.	25	w	205	61	212	80	220	121	218	70	208	3	218	30
S.G.	25	w	200	40	187	123	194	156	183	161	199	167	181	157
Mittelwert	24,1		205,7	45,1	203,4	125,4	202	137,9	200,3	139,1	204,9	107,7	203,4	58
Standardabweichung	2,2		30,3	20,9	32	47,2	30,6	21,1	34,3	50,5	23,8	80,3	32	47,6

nA: nach ASS-Applikation / vP: vor Passage des Glasperlenschlauches / nP: nach Passage des Glasperlenschlauches

Tabelle 27a:

Fortsetzung von Tabelle 27:

Gruppe 2 (Placebo), n = 7

Proband	Alter	Geschl.	Thrombocyten x $10^3/\mu l$ vor Placebo vP	nP	24h n.P. vP	nP	48h n.P. vP	nP	72h n.P. vP	nP	96h n.P. vP	nP	144h n.P. vP	nP
J.B.	25	m	195	12	202	9	205	6	192	9	198	5	209	11
M.S.	25	w	175	54	168	82	163	29	177	41	168	8	170	52
C.S.	23	w	220	47	210	63	207	27	222	88	207	32	213	53
G.F.	24	w	185	35	196	37	192	52	199	74	189	66	200	69
D.K.	27	m	180	32	171	25	177	76	189	48	175	78	171	61
J.F.	23	m	175	71	183	57	189	92	180	129	188	69	183	63
H.B.	25	m	230	50	221	67	233	30	237	67	242	84	234	53
Mittelwert	24,6		194,3	43	193	48,6	195,1	44,6	199,4	65,1	195,3	48,9	197,1	51,7
Standardabweichung	1,4		22,3	18,8	19,9	25,8	22,7	30,4	22,2	38,1	24,4	33,3	23,7	19

n.P.: nach Placebo-Applikation

Tabelle 28:

Retention in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) vor ASS- bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation. Doppelblindversuch, n = 14

Gruppe 1 (ASS), n = 7

Proband	Retention (%)					
	vor ASS-A.	24h n.A.	48h n.A.	72h n.A.	96h n.A.	144h n.A.
M.D.	86,0	53,6	34,6	35,3	42,2	92,6
C.B.	73,2	17,6	27,1	6,2	89,8	69,7
S.E.	90,9	10,1	11,2	17,4	60,1	76,3
R.S.	71,3	35,2	49,3	32,6	83,3	78,2
B.H.	80,0	55,9	26,9	40,7	35,6	78,9
A.F.	70,2	62,3	45,0	67,9	98,6	86,2
S.G.	80,0	34,2	19,6	12,0	16,1	13,3
Mittelwert	78,8	38,4	30,5	30,3	60,8	70,7
Standard-abweichung	7,8	19,9	13,5	21,0	31,0	26,4

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 28a:

Fortsetzung von Tabelle 28:

Gruppe 2 (Placebo), n = 7

Proband	Retention (%)					
	vor Placebo	24h n.P.	48h n.P.	72h n.P.	96h n.P.	144h n.P.
J.B.	93,8	95,5	97,1	95,3	97,5	94,7
M.S.	69,1	51,2	82,2	76,8	95,2	69,4
C.S.	78,6	70,0	87,0	60,4	84,6	75,1
G.F.	81,1	81,1	72,9	62,8	65,1	65,5
D.K.	82,2	85,4	57,1	74,6	55,4	64,3
J.F.	59,4	68,9	51,3	28,3	63,3	65,6
H.B.	78,3	69,7	87,1	71,7	65,3	77,4
Mittelwert	77,5	74,5	76,4	67,1	75,2	73,1
Standard-abweichung	10,8	14,3	16,9	20,6	16,9	10,8

nP: nach Placebo-Applikation

Tabelle 29:

Differenz der Thrombocytenzahlen (vor Passage des Glasperlenschlauches) zwischen dem Wert vor ASS- bzw. Placebo-Applikation und den Werten 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation, n = 14 (vgl. Tab. 27 und 27a)

Gruppe 1 (ASS), n = 7

Proband	Änderung der Thrombocytenzahl (%)				
	24h n.A.	48h n.A.	72h n.A.	96h n.A.	144h n.A.
M.D.	-4,0	+4,0	-5,0	-0,5	-5,0
C.B.	+2,4	-4,0	-3,2	-5,6	+0,4
S.E.	-3,6	-7,9	-6,1	+1,8	-3,0
B.S.	-4,2	-6,3	+0,8	-2,9	-2,5
B.H.	+4,4	-2,8	-4,4	+6,1	+5,6
A.F.	+3,4	+7,3	+6,3	+1,5	+6,3
S.G.	-6,5	-3,0	-8,5	-0,5	-9,5
Mittelwert	-1,2	-1,8	-2,9	0	-1,1
Standard-abweichung	4,4	5,5	4,9	3,7	5,7

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 29a:

Fortsetzung von Tabelle 29

Gruppe 2 (Placebo), n = 7

Proband	Änderung der Thrombocytenzahl (%)				
	24h n.P.	48h n.P.	72h n.P.	96h n.P.	144h n.P.
J.B.	+3,6	+5,1	-1,5	+1,5	+7,2
M.S.	-4,0	-6,9	+1,1	-4,0	-2,9
C.S.	-4,5	-5,9	+0,9	-5,9	-3,2
G.F.	+5,9	+3,8	+7,6	+2,2	+8,1
D.K.	-5,0	-1,7	+5,0	-2,8	-5,0
J.F.	+4,6	+8,0	+2,9	+7,4	+4,6
H.B.	-3,9	+1,3	+3,0	+5,2	+1,7
Mittelwert	-0,5	+0,5	+2,7	+0,5	+1,5
Standard-abweichung	4,9	5,6	3,0	4,9	5,3

nP: nach Placebo-Applikation

Tabelle 30:

Differenz der Retention zwischen dem Wert vor ASS- bzw. Placebo-Applikation und den Werten 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation, n = 14 (vgl. Tab. 28 und 28a)

Gruppe 1 (ASS), n = 7

Proband	Änderung der Retention (%)				
	24h n.A.	48h n.A.	72h n.A.	96h n.A.	144h n.A.
M.D.	-32,4	-51,4	-50,7	-43,8	+ 6,6
C.B.	-55,6	-46,1	-67,0	+16,6	- 3,5
S.E.	-80,8	-79,7	-73,5	-30,8	-14,6
B.S.	-36,1	-22,0	-38,7	+12,0	+ 6,9
R.H.	-24,1	-53,1	-39,3	-44,4	- 1,1
A.F.	- 7,9	-35,2	- 2,3	+28,4	+16,0
S.G.	-45,8	-60,4	-68,0	-63,9	-66,7
Mittelwert	-40,4	-49,7	-48,5	-18,0	- 8,1
Standard-abweichung	23,4	18,3	24,7	36,2	27,6

nA: nach ASS-Applikation

Tabelle 30a:

Fortsetzung von Tabelle 30

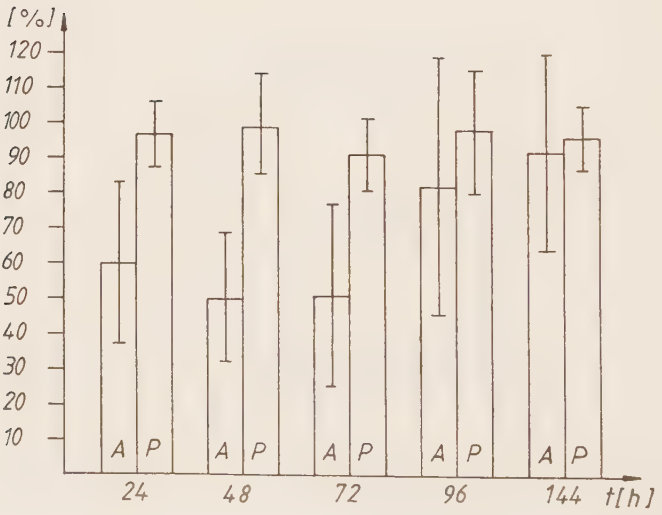
Gruppe 2 (Placebo), n = 7

Proband	Änderung der Retention (%)				
	24h n.P.	48h n.P.	72h n.P.	96h n.P.	144h n.P.
J.B.	+ 1,7	+ 3,3	+ 1,5	+ 3,7	+ 0,9
M.S.	-17,9	+13,1	+ 7,7	+26,1	+ 0,3
C.S.	- 8,6	+ 8,4	-18,2	+ 6,0	- 3,5
G.F.	0	- 8,2	-18,3	-16,0	-15,6
D.K.	+ 3,2	-25,1	- 7,6	-26,8	-17,9
J.F.	+ 9,5	- 8,1	-21,1	+ 3,9	+ 6,2
H.B.	- 8,6	+ 8,8	- 6,6	-13,0	- 0,9
Mittelwert	- 3,0	- 1,1	- 8,9	- 2,3	- 4,4
Standard-abweichung	9,2	13,4	10,9	17,6	9,0

nP: nach Placebo-Applikation

Abbildung 5:

Retention in Prozent vom Ausgangswert 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger peroraler Applikation von 1 g ASS bzw. Placebo (Heparin-Citrat-Blut)



A: Acetylsalicylsäure
P: Placebo

Tabelle 31:

Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten vor ASS- bzw. Placebo-Applikation sowie 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation. Doppelblindversuch, n = 14

Gruppe 1 (ASS), n = 7

Proband	nMol MDA/10^9 Thrombocyten											
	vor ASS-A.		24h n.A.		48h n.A.		72h n.A.		96h n.A.		144h n.A.	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
M.D.	0,71	1,0	0,29	0,16	0,31	0,42	0,53	0,81	0,65	0,95	0,7	1,1
C.B.	0,61	1,2	0,68	0,72	0,49	0,62	0,61	0,80	0,41	1,1	0,63	1,1
S.E.	0,71	1,5	0,86	0,92	0,5	0,62	0,65	0,87	0,54	1,3	0,75	1,3
B.S.	0,61	1,1	0,24	0,33	0,31	0,38	0,35	0,49	0,36	0,57	0,54	1,3
B.H.	0,89	1,7	0,37	0,46	0,5	0,62	0,32	0,9	0,67	1,4	0,76	1,4
A.F.	0,92	1,6	0,33	0,5	0,19	0,4	0,55	0,68	0,53	0,58	0,39	0,54
S.G.	0,51	1,2	0,34	0,39	0,44	0,71	0,61	0,91	0,48	0,75	0,52	0,95
Mittelwert	0,71	1,33	0,44	0,5	0,39	0,54	0,52	0,78	0,52	0,95	0,61	1,1
Standard-abweichung	0,15	0,27	0,23	0,25	0,12	0,13	0,13	0,15	0,11	0,33	0,14	0,29

nA: nach ASS-Applikation / T: MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer + Thrombin
P : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer

Tabelle 31a:

Fortsetzung von Tabelle 31

Gruppe 2 (Placebo), n = 7

Proband	nMol MDA/10^9 Thrombocyten											
	vor Placebo		24h n.P.		48h n.P.		72h n.P.		96h n.P.		144h n.P.	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
J.B.	0,61	1,3	0,34	1,2	0,48	0,95	0,56	1,4	0,71	1,4	0,66	1,35
M.S.	0,67	1,2	0,46	0,9	0,59	1,1	0,96	1,7	0,84	1,7	0,88	1,6
C.S.	0,64	1,6	0,86	1,5	0,62	1,4	0,93	1,3	0,77	1,6	0,69	1,4
G.F.	0,51	0,9	0,51	0,9	0,61	1,0	0,43	0,82	0,41	0,63	0,64	1,1
D.K.	0,91	1,8	0,62	1,3	0,47	1,1	0,99	1,6	0,58	1,0	0,86	1,6
J.F.	0,78	1,5	0,66	0,96	0,46	0,78	1,1	1,4	0,7	0,9	0,54	1,0
H.B.	0,78	1,3	0,84	1,5	0,68	1,2	0,64	1,0	0,88	1,7	0,92	1,6
Mittelwert	0,7	1,37	0,61	1,18	0,56	1,08	0,8	1,32	0,7	1,28	0,74	1,4
Standard-abweichung	0,13	0,29	0,19	0,27	0,09	0,2	0,25	0,31	0,16	0,43	0,14	0,25

nP: nach Placebo-Applikation

Tabelle 32:

Änderung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten zwischen dem Wert vor ASS- bzw. Placebo-Applikation und den Werten 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger ASS- (1 g peroral) bzw. Placebo-Applikation, n = 14 (vgl. Tab. 31 und 31a)

Gruppe 1 (ASS), n = 7

Proband	Änderung der MDA-Produktion (%)									
	24h n.A.		48h n.A.		72h n.A.		96h n.A.		144h n.A.	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
M.D.	-59,2	-84,0	-56,3	-58,0	-25,4	-19,0	- 8,5	- 5,0	- 1,4	+10,0
C.B.	+11,5	-40,0	-19,7	-48,3	0	-33,3	-32,8	- 8,3	+ 3,3	- 8,3
S.E.	+21,1	-38,7	-29,6	-58,7	- 8,5	-42,0	-23,9	-13,3	+ 5,6	-13,3
B.S.	-60,7	-70,0	-49,2	-65,5	-42,6	-55,5	-41,0	-48,2	-11,5	+18,2
B.H.	-58,4	-72,9	-43,8	-63,5	-64,0	-47,1	-24,7	-17,6	-14,6	-17,6
A.F.	-64,1	-68,8	-79,3	-75,0	-40,2	-57,5	-42,4	-63,8	-57,6	-66,3
S.G.	-33,3	-67,5	-13,7	-40,8	+19,6	-24.2	- 5,9	-37,5	+ 2,0	-20,8
Mittelwert	-34,7	-63,1	-41,7	-58,5	-23,0	-39,8	-25,6	-27,7	-10,6	-14,0
Standard-abweichung	36,4	17,1	22,7	11,3	28,6	14,9	14,5	22,4	22,1	27,2

nA: nach ASS-Applikation
P : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer
T : MDA-Produktion nach Inkubation mit Puffer + Thrombin

Tabelle 32a:

Fortsetzung von Tabelle 32

Gruppe 2 (Placebo), n = 7

Proband	Änderung der MDA-Produktion (%)									
	24h n.P.		48h n.P.		72h n.P.		96h n.P.		144h n.P.	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
J.B.	-44,3	- 7,7	-21,3	-26,9	- 8,2	+ 7,7	+16,4	+ 7,7	+ 8,2	+ 3,8
M.S.	-31,3	-25,0	-11,9	- 8,3	+43,3	+41,7	+25,4	+41,7	+31,3	+33,3
C.S.	+34,4	- 6,3	- 3,1	-12,5	+45,3	-18,8	+20,3	0	+ 7,8	-12.5
G.F.	0	0	+19,6	+11,1	-15,7	- 8,9	-19,6	-30,0	+25,5	+22,2
D.K.	-31,9	-27,8	-48,4	-38,9	+ 8,8	-11,1	-36,3	-44,4	- 5,5	-11,1
J.F.	-15,4	-36,0	-41,0	-48,0	+41,0	-16,7	-10,3	-40,0	-30,8	-33,3
H.B.	+ 7,7	+15,4	-12,8	- 7,7	-17,9	-23,1	+12,8	+30,8	+17,9	+23,1
Mittelwert	-11,5	-12,5	-17,0	-18,7	+13,8	- 4,2	+ 1,2	- 4,9	+ 6,1	+ 3,6
Standard-abweichung	27,4	18,0	22,9	20,4	28,8	22,5	23,4	34,3	22,4	24,0

nP: nach Placebo-Applikation

Tabelle 33:

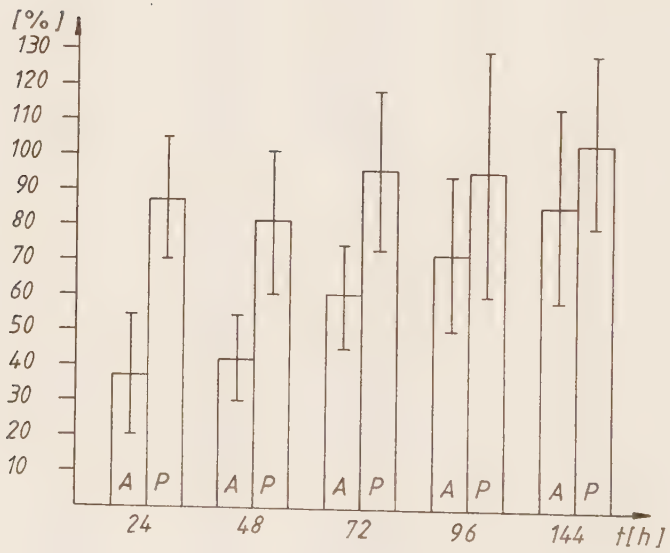
Retention in der vierten 1 ml-Portion in antikoaguliertem Blut (5,9 I.E. Heparin + Citrat im Verhältnis von 1:8,5), n = 30

Proband	Alter	Geschl.	Thromboc. x 10^3/ µl vP	nP	Retention (%)
J.F.	23	m	208	125	39,9
			221	81	63,3
			175	71	59,4
N.D.	26	m	213	46	78,4
			202	32	84,2
A.F.	24	m	214	142	33,6
			259	4	98,5
C.N.	23	m	205	33	83,9
N.H.	24	m	198	77	61,1
			188	56	70,2
D.N.	27	m	229	82	64,2
			165	8	95,2
C.B.	22	m	240	34	85,8
M.B.	30	m	191	113	40,8
			176	38	78,4
B.Y.	25	m	209	60	71,3
E.G.	24	w	256	47	81,6
			202	40	80,2
M.B.	23	w	272	9	96,7
K.R.	27	w	211	16	92,4
B.B.	25	w	177	2	98,9
B.W.	24	w	212	25	88,2
M.S.	21	w	180	53	70,6
C.S.	23	w	201	50	75,1
			220	47	78,6
J.H.	20	w	207	82	60,4
M.E.	20	m	216	35	83,8
M.D.	23	w	200	28	86,0
C.B.	20	w	250	67	73,2
S.E.	25	m	165	15	90,9
B.S.	27	m	240	69	71,3
B.H.	24	w	180	36	80,0
A.F.	25	w	205	61	70,2
S.G.	25	w	200	40	80,0
J.B.	25	m	195	12	93,8
M.S.	25	w	175	54	69,1
G.F.	24	w	185	35	81,1
D.K.	27	m	180	32	82,2
H.B.	25	m	230	50	78,3
Mittelwert	24,2		206,5	48,9	76,2
Standardabweichung	2,3		26,2	31,7	15,3

Bei mehrfach untersuchten Probanden betrug der Abstand der einzelnen Untersuchungen voneinander mindestens 30 Tage.

Abbildung 6:

Malonyldialdehyd-Produktion (nach Inkubation mit Puffer und Thrombin) in Prozent vom Ausgangswert 24, 48, 72, 96 und 144 Stunden nach einmaliger peroraler Applikation von 1 g ASS bzw. Placebo



A: Acetylsalicylsäure
P: Placebo

Stunden betrugen die entsprechenden Werte 41,7% (MDA-P, s:22,7%) bzw. 58,5% (MDA-T, s:11,3%), nach 72 Stunden 23,0% (MDA-P, s:28,6%) bzw. 39,8% (MDA-T, s:14,9%), nach 96 Stunden 25,6% (MDA-P, s:14,5%) bzw. 27,7% (MDA-T, s:22,4%), nach 144 Stunden 10,6% (MDA-P, s:22,1%) bzw. 14,0% (MDA-T, s:27,2%).

Bei der Placebo-Gruppe ergaben sich vor Placebo-Applikation folgende Werte: MDA-P 0,7 nMol/10^9 Th. (s:0,13 nMol), MDA-T 1,37 nMol/10^9Th. (s:0,29 nMol). Nach 24 Stunden ergaben sich im Mittel folgende Änderungen der Werte der MDA-Produktion: -11,5% (MDA-P, s:27,4%) bzw. -12,5% (MDA-T, s:18,04); nach 48 Stunden -17,0% (MDA-P, s:22,9%) bzw. -18,7% (MDA-T, s:20,4%); nach 72 Stunden +13,8% (MDA-P, s:28,8%) bzw. -2,7% (MDA-T, s: 21,9%); nach 96 Stunden +1,2% (MDA-P, s:23,4%) bzw. -4,9% (MDA-T, s:34,3%); nach 144 Stunden +6,1% (MDA-P, s:22,4%) bzw. +3,6% (MDA-T, s: 24,0%) (s. Tab. 31 und 32 sowie Abb. 6).

4. Diskussion

Die Ergebnisse machen deutlich, daß Acetylsalicylsäure die Thrombocytenretention bei Anwendung einer modifizierten Technik beeinflussen kann. Der Acetylsalicylsäure-Einfluß kann mit einem modifizierten Retentionstest, unter Verwendung eines Antikoagulantiengemisches aus Heparin und Citrat, nachgewiesen werden.

Das Alter der Probanden betrug zwischen 20 und 30

Jahre. Eine Beeinflussung der Retention durch das Alter der Versuchspersonen, wie sie beschrieben worden ist (24, 31), kann damit bei unseren Untersuchungen vernachlässigt werden.

In den Ergebnissen zeigt sich, daß die Retentionsveränderungen zeitabhängig sind. Die einzelnen Ergebnisse sollen im folgenden diskutiert werden.

4.1 Untersuchung der Thrombocytenretention in Nativblut

Bei eigenen Untersuchungen an 20 Probanden konnten die in der Literatur angegebenen Werte bestätigt werden. So ergab sich bei eigenen Untersuchungen eine mittlere Retention von 93,1% bei einer Standardabweichung von 2,3%. V. VOSS und FRENSCH (40, 116) geben bei gleicher Methodik einen Mittelwert von 93,5% (s:3,8%) an. Die Hersteller-Firma des verwendeten Glasperlenschlauches (ThromboScreen Rot, Fa. Systron, Wiesbaden) gibt als Normbereich bei gesunden Erwachsenen eine Retention von mindestens 90% an.

4.2 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien in Vollblut

Die Verwendung von antikoaguliertem Blut bei einem Gerinnungstest erscheint grundsätzlich vorteilhaft, denn die Gefahr der Gerinnung entfällt. Durch diese Tatsache wird der Umgang mit dem Test

erheblich erleichtert. So muß der Test nicht unbedingt im Anschluß an die Blutabnahme durchgeführt werden. Die Verwendung von Nativblut macht die Anwesenheit des Patienten im Labor notwendig; die schnell einsetzende Blutgerinnung nach Blutabnahme macht es unmöglich, die benötigten Blutproben in ein Labor einzusenden. Auch dieser Nachteil entfällt bei Verwendung ungerinnbar gemachten Blutes. Dem Vorteil der besseren Handhabbarkeit des Tests steht als Nachteil ein Eingreifen in die physiologischen Verhältnisse der Blutgerinnung gegenüber.

In der Vergangenheit sind bereits verschiedene Versuche der Anwendung von Antikoagulantien bei Retentionstests gemacht worden. Aus noch näher zu besprechenden Gründen ergaben sich jedoch bei diesen Methoden zum Teil erhebliche Nachteile. Allgemein hat sich für die Messung der Thrombocytenretention die Verwendung von Nativblut durchgesetzt. Diese Tatsache findet ihre Begründung darin, daß es bisher aus Gründen der Physiologie nur unter Verwendung von nicht antikoaguliertem Blut gelang, die Forderung nach einem möglichst hohen Retentions-Normwert mit geringer Standardabweichung zu erfüllen. Nur bei Erfüllung dieser Forderung lassen sich auch gering pathologische Werte erkennen.

Es ist bekannt, daß sowohl Heparin als auch Citrat die Thrombocytenfunktion konzentrationsabhängig beeinflussen. Diese Einflüsse sind insbesondere bei der Aggregation und Retention nachweisbar. So bindet Citrat Calcium, zur Aus-

lösung der spontanen Aggregation sind jedoch freie Calciumionen nötig. ADP-induzierte Thrombocytenaggregation und Retention werden mit steigender Citratkonzentration gehemmt (84, 92, 113). Hinsichtlich des Heparins sind die Berichte widersprüchlich. So wurde in der Literatur mehrfach angegeben, daß Heparin weder in vitro noch in vivo einen Einfluß auf die Retention hat (6, 82, 83, 84, 95). Es wurde weiter sowohl berichtet, daß sich mit zunehmender Heparinkonzentration die Retention erhöht (80), als auch, daß sie sinkt (51, 52, 53). Es wurde auch berichtet, daß Thrombocyten an mit Heparin beschichteten Oberflächen nicht haften (64).

4.2.1 Vergleicht man den mittleren Retentionswert in der ersten 1 ml-Portion bei Verwendung von Heparinblut ($\bar{x}$:88,2%, s:5,4%) mit dem bei sonst identischer Methodik erhaltenen Wert bei Verwendung von Nativblut ($\bar{x}$:93,1%, s:2,3%) (vgl. Tab. 1 und 3), so erscheint der Unterschied gering.

Der errechnete hohe Mittelwert bei Verwendung von Heparinblut steht im Widerspruch zu dem von v. VOSS angegebenen Wert von 34,1% (s:14,4%), der allerdings bei einer geringfügig niedrigeren Heparin-Dosierung von 5 I.E./ml Blut gegenüber 5,3 I.E./ml Blut bei eigenen Untersuchungen registriert wurde (117).

BOWIE und OWEN (14) konnten jedoch zeigen, daß bei Normalpersonen unter Verwendung von heparinisiertem Blut ein hoher Retentionsmittelwert von 90,0% mit einer geringen Standardabweichung von

8,8% erreichbar ist. Bei Patienten mit einer v. WILLEBRAND'schen Krankheit registrierten BOWIE und OWEN eine deutlich verringerte Retention ($\bar{x}$:17,6%, s:19,3%). Allerdings arbeiteten sie mit einer im Vergleich zu der hier verwendeten Methode erheblich größeren Glaskugelmenge. Die oben zitierten Retentionswerte wurden außerdem erst in der vierten 1 ml-Portion gefunden.

Für die eigenen Untersuchungen mit Heparinblut wurde deshalb eine Konzentration von 5,3 bzw. 5,9 I.E./ml Blut gewählt, weil früheren Mitteilungen zufolge eine Konzentration in dieser Größenordnung für die Durchführung von Retentionsuntersuchungen geeignet erscheint (14, 17, 52, 80). Bei Verwendung höherer Konzentrationen (50 I.E./ml Blut und mehr) kommt es spontan zu Aggregatbildungen (36). Niedrigere Konzentrationen als 5 I.E./ml Blut führen zur vorzeitigen Gerinnung des Blutes (117). 5 I.E. Heparin/ml Blut sind also als Grenzwert für derartige Untersuchungen anzusehen.

Bei eigenen Untersuchungen stieg die mittlere Retention in den weiteren 1 ml-Portionen weiter an: In der zweiten 1 ml-Probe auf 97,2% (s:1,9%), in der dritten 1 ml-Probe auf 98,8% (s:0,6%) und in der vierten 1 ml-Probe auf 97,3% (s:2,1%). Die höheren Retentionswerte, die in der zweiten bis vierten 1 ml-Probe gemessen wurden, sind möglicherweise über die längere Kontaktzeit der Plättchen mit den Glasperlen zu erklären. Mit zunehmender Dauer des Glasperlenkontaktes der Thrombocyten kommt es bei gleichzeitig vergrößerter Durch-

flußmenge zu einer größeren 'Kontaktaktivierung'. 'Kontaktaktivierung' beinhaltet auch die Freisetzung von ADP (75, 127).

Auch bei Verwendung von Nativblut ist ein Retentionsanstieg mit steigender Durchflußmenge beschrieben (117). Es sind Methoden beschrieben, die erst die Plättchenzahl in der dritten bzw. vierten 1 ml-Portion nach Passage des Glasperlenschlauches für die Retentionsberechnung zugrundelegen (14, 16, 18, 54, 60).

Als Ursache einer erniedrigten Retention bei Verwendung von heparinisiertem Blut sind die Einflüsse des stark negativ geladenen Heparinmoleküls auf elektrostatische Prozesse zu diskutieren. Durch diese Vorgänge kommt es über Ca^{++}-Ionenbrücken (82) zu einer Adhäsion der an der Oberfläche negativ geladenen Plättchen (63) aneinander bzw. an Glas. Die stark negative Ladung des Heparins könnte der Grund dafür sein, daß es die zur Adhäsion notwendigen Ca^{++}-Ionen bindet (123).

Möglicherweise hemmt Heparin auch die Thrombinbildung an der Thrombocytenoberfläche und damit die Aggregation (die Retention umfaßt bekanntlich sowohl die Adhäsion als auch die Aggregation) (17, 50, 51, 93, 95). Der Grund für die aggregationsinduzierende Wirkung hoher Heparindosen (s. oben) liegt in der ADP-Freisetzung und der darauf folgenden Plättchenaggregation.

Von EIKA (37) wird mitgeteilt, daß Thrombocyten

bei der Herstellung plättchenreichen Plasmas mit Heparin als Antokoagulans geringe Mengen an ADP freisetzen. Hierdurch wird ein weniger aktiver Zustand der Plättchen bedingt. Es ist denkbar, daß vergleichbare Prozesse auch in heparinisiertem Vollblut ablaufen. Damit wäre eine weitere Erklärungsmöglichkeit für eine geringere Retention gegeben.

Zusammenfassend scheinen sich zwei gegensätzliche Einflüsse von Heparin auf die Retention nachweisen zu lassen:

Auf der einen Seite Herabsetzung der Retention durch Einfluß auf elektrostatische Vorgänge, Ca^{++}-Ionenbindung oder Hemmung der Thrombinbildung.

Auf der anderen Seite könnte es über die ADP-Freisetzung zu einer höheren Retention führen.

Mit diesen entgegengesetzten Einflüssen lassen sich die berichteten verschiedenen Untersuchungsergebnisse erklären. Möglicherweise tritt - abhängig von der verwendeten Methode der Retentionsmessung - mehr der eine oder der andere Effekt in Erscheinung.

4.2.2 Es ist bekannt, daß Citrat die Thrombocytenretention herabsetzt (52, 80, 82, 83) bzw. sogar ganz verhindert (14, 95). Die Retentionswerte bei Verwendung von Citratblut liegen daher sehr niedrig (117). Als Grund für die sehr niedrige Retention von Citratblut wird angegeben, daß für die Adhäsi-

vität der Plättchen unter anderem Ca^{++}-Ionen notwendig sind (82, 95). Auch andere Chelatbildner, die Ca^{++}-Ionen binden, wie Oxalat und EDTA, erniedrigen die Retention, da sie die Bildung von Kationen-Brücken verhindern (49).

Obwohl es Berichte über Retentionsmessungen unter Verwendung von Citratblut gibt (51), scheidet Citrat wegen der sehr niedrigen Retentionswerte als alleiniges Antikoagulans aus. Bei sehr niedrigen Retentionswerten ist es schwierig, wenn nicht sogar unmöglich, pathologische Werte von Normalwerten abzugrenzen.

Bei eigenen Untersuchungen wurde daher ein Antikoagulantien-Gemisch aus Heparin und Citrat für die Messungen verwendet. Die Heparindosis lag dabei aus technischen Gründen mit 5,9 I.E./ml Blut geringfügig höher als im Vorversuch. Na-Citrat wurde in einem Verhältnis von 1:8,5 mit Blut gemischt. Gegenüber den an denselben Probanden mit sonst gleicher Methodik durchgeführten Messungen ergaben sich bei Verwendung der beschriebenen Antikoagulantienmischung deutlich reduzierte Retentionswerte. In der ersten 1 ml-Probe wurde ein Mittelwert von 16,1% (s:4,7%) registriert. In den folgenden Proben stiegen die jeweiligen Mittelwerte deutlich an. Der Grund für die mit zunehmender Durchflußzeit höheren Retentionswerte ist - wie oben beschrieben - wahrscheinlich in der größeren 'Kontaktaktivierung' zu suchen.

In den weiteren Retentionsuntersuchungen sollten

jeweils die zweite bis vierte 1 ml-Portion untersucht werden, da die Retention in der ersten 1 ml-Portion zu niedrig war, um nach unten abweichende Werte sicher abgrenzen zu können. Aus praktischen Gründen erschien es nicht günstig, die nach der vierten 1 ml-Portion aufgefangenen Proben zur Retentionsmessung zu benutzen, denn es zeigte sich, daß nach der sechsten 1 ml-Probe mit dem Gerinnen des Blutes gerechnet werden muß. Um die Gefahr der möglichen Gerinnung des Blutes bei der Untersuchung sicher zu vermeiden, erschien für die weiteren Untersuchungen das oben beschriebene Verfahren sinnvoll.

4.2.3 Die vergleichende Thrombocytenzählung vor Passage des Glasperlenschlauches bei Mischung des Blutes mit dem verwendeten Antikoagulantiengemisch bzw. Phosphatpuffer ergab nur sehr geringe Unterschiede (vgl. Tab. 6). Die höchste registrierte Differenz lag mit 5,9% (B.B.) noch unter der höchsten Differenz der Doppelwertbestimmungen bei den Thrombocytenzählungen mit 6,6%. Damit ist es nicht auszuschließen, daß die sich ergebenden Differenzen ($\bar{x}$:1,1%, s:5,4%) auf Zählfehler zurückzuführen sind. Eine nennenswerte Beeinflussung der Plättchenzahl durch die Verwendung des Heparin-Citrat-Gemisches läßt sich damit wohl ausschließen.

4.3 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure in Vollblut

Früheren Mitteilungen zufolge ist mit den verfüg-

baren Verfahren der Retentionsmessung der Nachweis einer Acetylsalicylsäure-Wirkung auf die Thrombocytenfunktion nicht möglich (46, 117, 122). Der Nachweis einer ASS-Wirkung auf die primäre Hämostase ist damit - von der Blutungszeit-Bestimmung abgesehen - methodisch aufwendigeren Verfahren als der Retentionsmessung vorbehalten.

Ziel der weiteren Untersuchungen dieser Arbeit war die Entwicklung einer modifizierten Methode der Retentionsmessung, die den Nachweis des ASS-Einflusses auf die Thrombocytenfunktion möglich macht.

4.3.1 Wie bereits ausgeführt, erscheint die alleinige Verwendung von Citrat als Antikoagulans für Retentionsuntersuchungen wenig geeignet (vgl. 4.2).

Bei eigenen Untersuchungen konnte dieses auch für die Retention unter ASS-Einfluß mit Citrat-antikoaguliertem Blut bestätigt werden.

Bei fünf Probanden wurde vor ASS-Applikation in der zweiten 1 ml-Portion eine mittlere Retention von 15,4% (s:7,1%) gefunden. Hiermit lag die Retention etwa um die Hälfte niedriger als bei Verwendung eines Heparin-Citrat-Gemisches ($\bar{x}$:30,5%, s:11,9%). Auch in der dritten und vierten 1 ml-Portion ergaben sich mit 23,8% (s:11,1%) bzw. 31,8% (s:25,2%) deutlich geringere Werte.

Die vier Stunden nach ASS-Applikation bestimmten Retentionswerte unterschieden sich in der Tendenz von den Vorwerten nicht eindeutig. So lag die Re-

tention in der zweiten 1 ml-Probe mit 20,7% (s:13,2%) höher als der vergleichbare Vorwert. In der dritten 1 ml-Probe wurde mit 21,7% (s: 13,2%) hingegen eine im Mittel geringfügig niedrigere Retention als vor ASS-Applikation gemessen. In der vierten 1 ml-Portion ergab sich mit 34,2% (s:29,7%) wiederum eine im Mittel leicht erhöhte Retention (vgl. Tab. 8 und 10).

Die bei dieser Untersuchung erhaltenen Werte bestätigen die Ansicht, daß Citrat als alleiniges Antikoagulans für Retentionsuntersuchungen nicht in Frage kommt. Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Retention ist mit dieser Methode nicht nachweisbar.

4.3.2 Bei sonst gleichem Vorgehen wurde hier das schon in den Vorversuchen benutzte Heparin-Citrat-Gemisch verwendet. Vor der ASS-Applikation ergaben sich damit im Vergleich zum Vorversuch deutlich höhere Retentionswerte. So wurde für die zweite 1 ml-Portion eine mittlere Retention von 41,1% (s:7,9%) errechnet, für die dritte 1 ml-Probe ergab sich ein Wert von 54,1% (s:16,6%), für die vierte 1 ml-Portion betrug der Wert 75,7% (s: 17,4%).

Damit lagen diese Werte allerdings auch höher als die in den Vorversuchen mit gleicher Methode ermittelten Werte. Möglicherweise sind die Differenzen bedingt durch die Lagerung des Antikoagulantiengemisches.

Bei den Retentionswerten, die vier Stunden nach

ASS-Applikation gemessen wurden, war gegenüber den Vergleichswerten vor ASS-Applikation eine deutliche Retentionsminderung festzustellen. So lag die mittlere Retention nach ASS-Applikation in der zweiten 1 ml-Probe um 21,5% (s:10,8%) unter dem vorher gemessenen Wert. In der dritten 1 ml-Probe betrug die Differenz im Mittel 21,1% (s:19,4%), in der vierten 1 ml-Probe erreichte sie mit einem Mittelwert von 28,3% (s:12,5%) den höchsten Wert. Nur bei einem Probanden (D.N.) war in der zweiten und dritten 1 ml-Portion ein geringfügiger Retentionsanstieg (2,3% bzw. 6,3%) festzustellen. Die vor Passage des Glasperlenschlauches gezählten Plättchenzahlen lagen vier Stunden nach ASS-Applikation im Mittel um 7,9% (s:5,6%) unter den vor ASS-Applikation gezählten Werten (vgl. Tab. 11 - 15).

Bei den folgenden Untersuchungen erfolgten die Retentionsmessungen in der vierten 1 ml-Portion, weil hier die größte Differenz zwischen den vor und nach ASS-Applikation gemessenen Werten bestand (28,3%). Die Standardabweichung war dabei mit 12,5% nur wenig höher als in der zweiten 1 ml-Portion (10,8%). Die dritte 1 ml-Portion erschien aufgrund der gemessenen Differenz von im Mittel 21,1% und gleichzeitig hoher Standardabweichung von 19,4% für die weiteren Untersuchungen ebenfalls nicht geeignet.

4.3.3 Um genaueren Aufschluß über den zeitlichen Verlauf der ASS-Wirkung auf die Retention zu erhalten, wurden Retentionsmessungen vor ASS-Applikation sowie 30, 60, 120 und 240 Minuten nach ASS-

Applikation durchgeführt.

Die gemessenen Werte zeigen im Vergleich zum Vorversuch im Durchschnitt eine höhere Retention (s. Tab. 17). So lag der Retentionswert in der vierten 1 ml-Probe vor ASS-Applikation jetzt im Mittel bei 90,1% (s:7,2%) gegenüber 75,7% (s: 17,4%) im Vorversuch.

30 Minuten nach ASS-Applikation hatten drei Probanden im Vergleich zum Ausgangswert bereits deutlich herabgesetzte Retentionswerte, während bei zwei Probanden die Ausgangswerte noch annähernd erreicht wurden (s. Tab. 17).

60 Minuten nach ASS-Applikation war die mittlere Retention mit einem Wert von 56,4% (s:18,8%) niedriger als 30 Minuten zuvor ($\bar{x}$:67,3%, s:24,1%), auch war zu diesem Zeitpunkt bei allen Probanden im Vergleich zu den jeweiligen Ausgangswerten eine deutliche Differenz bemerkbar. Nach 120 Minuten war der Mittelwert auf 49,1% (s:19,7%) gesunken, um bei der letzten Messung nach 240 Minuten einen Wert von 41,6% (s:13,9%) zu erreichen. Im Vorversuch war nach derselben Zeitspanne ein Wert von 47,3% (s:12,7%) registriert worden. Die Differenz dieser Werte von 5,7% ist bei den errechneten Standardabweichungen von 12,7% bzw. 13,9% als gering zu bezeichnen.

Möglicherweise läßt sich aus den Ergebnissen weiter die Vermutung ableiten, daß der ASS-Effekt auf die Retention eine zeitabhängige Intensität aufweist, denn bei dieser Untersuchung

nahm die Retention mit zunehmender Zeitdauer ab. Der zeitabhängige Verlauf der Retentionswerte insbesondere in der ersten Stunde nach ASS-Applikation scheint darauf hinzudeuten, daß wenige Minuten (nach 30 Minuten war eine Retentionsminderung bei drei Probanden nachweisbar) bis eine Stunde (nach dieser Zeit war die Retentionsminderung bei allen Probanden nachweisbar) vergehen müssen, ehe eine veränderte Retention nachweisbar wird. Offenbar nimmt in den ersten vier Stunden nach ASS-Applikation die Retentionsänderung mit zunehmender Zeitdauer ab (s. Tab. 19).

Hinsichtlich der Geschwindigkeit und des Ausmaßes der enteralen Resorption peroral applizierter Acetylsalicylsäure sind bisher keine exakten Untersuchungen bekannt (46). CLARKE (28) weist darauf hin, daß es Menschen gibt, die schnell einen therapeutisch wirksamen Blutspiegel an Salicylaten erreichen, während andere länger brauchen, um die gleiche Wirkung zu zeigen. CLARKE geht bei seinen Überlegungen von einer genetischen Determination dieses Unterschieds aus. Es erscheint denkbar, daß damit sowohl das unterschiedlich schnelle Ansprechen verschiedener Individuen auf ASS als auch die bei eigenen Untersuchungen festgestellten zeitlich unterschiedlich ablaufenden Retentionsänderungen erklärbar sind.

Allgemein wird angegeben, daß das Maximum des Salicylspiegels im Blut 60 Minuten nach Applikation erreicht wird (67). Das gleiche gilt für parenteral applizierte Acetylsalicylsäure (117).

Es finden sich jedoch auch Hinweise darauf, daß der höchste Salicylspiegel erst deutlich später erreicht wird (106).

Der therapeutische Bereich für ASS wird mit einem Plasmaspiegel von 18 - 22 µg% angegeben (117).

LEONARDS (65) fand bei einer Dosis von 640 mg ASS nach 20 Minuten einen Plasmaspiegel von 17 ± 1,3 mg Salicylat/l Plasma. Nach 30 Minuten betrug dieser Wert 24 ± 0,5 mg Salicylat/l Plasma, nach 60 Minuten 33 ± 0,6 mg Salicylat/l Plasma. STAUDACHER und MÜLLER (106) fanden bei einer Dosis von 20 mg ASS/kg KG nach 15 Minuten einen Plasmaspiegel von 9,4 mg/l Plasma, nach 30 Minuten von 11,0 mg/l Plasma, nach 60 Minuten von 32,6 mg/l Plasma. Der Plasmaspiegel stieg diesen Angaben zufolge nach 90 Minuten auf 46,3 mg/l Plasma, nach 120 Minuten auf 52 mg/l Plasma.

Es erscheint naheliegend, anzunehmen, daß die bei eigenen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse (insbesondere die bei allen Probanden 60 Minuten nach ASS-Applikation nachweisbare Retentionsminderung) mit dem zeitlichen Verlauf der enteralen Resorption in Verbindung stehen.

4.3.4 Auch bei dieser Untersuchung wurde die Retentionsbestimmung aus der vierten 1 ml-Portion beibehalten. Es wurde die Gesamtdauer der Retentionsänderung nach ASS-Applikation untersucht. In einem Fall wurde erst 264 Stunden nach ASS-Appli-

kation wieder ein normalisierter Retentionswert gefunden (Proband J.H.). Bei einer weiteren Probandin (M.S.) wurde 240 Stunden nach ASS-Applikation wieder eine normalisierte Retention gefunden. Alle anderen Probanden hatten bereits 144 Stunden nach ASS-Applikation Retentionswerte, die den Ausgangswerten in der Höhe vergleichbar waren (vgl. Tab. 21).

Es erscheint denkbar, daß der Zeitraum, in dem nach ASS-Applikation eine Verminderung der Retention nachweisbar ist, mit der Plättchenüberlebenszeit korreliert ist.

Der Mechanismus der ASS-Wirkung auf die Thrombocytenfunktion besteht darin, daß ASS über eine Blockierung der Phospholipase-A sowie der Cyclooxygenasen die Prostaglandinsynthese hemmt (62, 109, 110). Diese Blockierung ist reversibel; die Normalisierung der Prostaglandinsynthese hängt von der Zahl neugebildeter Thrombocyten ab.

V. VOSS (117) fand bei der Untersuchung eines anderen Parameters, der mit der Plättchenüberlebenszeit korreliert ist - der Messung der MDA-Produktion der Thrombocyten - bereits zwei Minuten nach parenteraler Applikation von ASS einen Hemmungseffekt auf die Malonyldialdehyd-Produktion der Thrombocyten. Bei peroraler Applikation von ASS kann das Eintreten des Hemmungseffektes, bedingt durch die Dauer der enteralen Resorption, etwas später erwartet werden. V. VOSS fand eine Normalisierung der MDA-Produktion nach ASS-Applikation innerhalb von 5,5 bis 7 Tagen. Bei der

fortlaufenden Messung der MDA-Produktion entsprechend der Versuchsanordnung von STUART und Mitarbeitern (110) fand v. VOSS eine Normalisierung innerhalb von 5,5 bis 11 Tagen.

LEVINE (66) und v. VOSS (117) äußern sich jedoch kritisch zur Messung der Thrombocytenüberlebenszeit mit dieser Methode. Die Bedenken richten sich in erster Linie gegen eine mögliche Blutungsinduktion durch die Gabe von ASS bei Erkrankungen, die mit einer gestörten Thrombocyten-Neubildung oder einem verstärkten Thrombocyten-Abbau einhergehen.

STUART und Mitarbeiter (110) meinen, eine Übereinstimmung der mit der Methode der MDA-Messung nach ASS-Gabe erhaltenen Werte mit den sonst üblicherweise verwendeten Methoden der Überlebenszeit-Bestimmung (Chrommarkierung der Thrombocyten) bewiesen zu haben.

Es ist denkbar, daß der Zeitraum, in dem nach ASS-Applikation eine Verminderung der Retention nachweisbar ist, mit der Zeit der MDA-Produktionshemmung und damit der Thrombocytenüberlebenszeit korreliert ist.

4.4 Untersuchung der Thrombocytenretention unter Einfluß von Antikoagulantien und Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

4.4.1 In einem ersten Doppelblindversuch an 10 Probanden, von denen je 5 Probanden ASS bzw. Placebo

erhielten, konnten die Ergebnisse der Vorversuche nicht bestätigt werden. In beiden Probandengruppen kam es zu starken Schwankungen der Retentionswerte (s. Tab. 25).

Es erscheint möglich, daß die Ursache dieser starken Retentionswertschwankungen in den Verfahrensmodifikationen liegt (Verwendung eines anderen Heparin-Präparates und einer anderen Punktionskanüle als in den Vorversuchen, vgl. 2.4.1). So findet sich in der Literatur der Hinweis, daß Heparin-Präparate aus Gründen des Wirkungsmechanismus und der Chemie nur ungenau standardisierbar seien (45).

4.4.2 In einem zweiten Doppelblindversuch wurde wieder die in den Vorversuchen erprobte Methodik verwendet.

In diesem Doppelblindversuch an insgesamt 14 Probanden, von denen je 7 Probanden ASS bzw. Placebo erhielten, konnten die Ergebnisse der Vorversuche im wesentlichen bestätigt werden:

So lagen die Retentionswerte vor Applikation von ASS bzw. Placebo annähernd auf gleicher Höhe. Der mittlere Retentionswert der ASS-Gruppe lag vor Applikation bei 78,8% (s:7,8%). Der Retentionsmittelwert der Vergleichsgruppe lag mit 77,5% (s:10,8%) nur geringfügig darunter.

Deutliche Unterschiede ergaben sich jedoch in den Messungen nach Applikation von ASS bzw. Placebo. Der mittlere Retentionswert der Placebo-Gruppe

lag 24 Stunden nach Applikation mit 74,5% (s: 14,3%) annähernd auf gleicher Höhe wie vor Placebo-Applikation. Der Vergleichswert der ASS-Gruppe lag hingegen mit 38,4% (s:19.9%) deutlich unter dem Ausgangswert.

Auch im weiteren Verlauf der Untersuchung waren deutliche Unterschiede der Retention in beiden Gruppen nachweisbar. So lag der niedrigste Retentionswert ($\bar{x}$) der Placebo-Gruppe bei 67,1% (s:20,6%). Dieser Wert wurde 72 Stunden nach Placebo-Applikation gefunden. Alle anderen errechneten Mittelwerte dieser Probandengruppe waren annähernd gleich groß wie der Ausgangswert. Einschränkend ist jedoch anzumerken, daß es bei den einzelnen Probanden im Verlauf der Untersuchung zu größeren Schwankungen der Retentionswerte kam (s. Tab. 28a).

Im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Gruppe kam es in der ASS-Gruppe insbesondere in den ersten 72 Stunden nach ASS-Applikation zu deutlich herabgesetzten Retentionswerten. So wurde 48 Stunden nach ASS-Applikation ein Mittelwert von 30,5% (s:13,5%) registriert. Nach 72 Stunden betrugen die entsprechenden Werte 30,3% (s:21,0%). Nach 96 Stunden war ein deutlicher Anstieg auf im Mittel 60,8% (s:31%) festzustellen, nach 144 Stunden wurde ein Mittelwert von 70,7% (s:26,4%) gemessen. Damit wurde innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 144 Stunden der Ausgangswert nicht wieder erreicht. Anzumerken ist jedoch, daß nur ein Proband (S.G.) extrem weit unter dem Ausgangswert lag (s. Tab. 28).

4.5 Untersuchung der Malonyldialdehyd-Produktion von Thrombocyten unter Einfluß von Acetylsalicylsäure im Doppelblindversuch

4.5.1 Im ersten Doppelblindversuch wurden bei den Vergleichsgruppen deutliche Unterschiede hinsichtlich der Hemmung der MDA-Produktion nach Applikation von ASS bzw. Placebo gefunden (s. Tab. 26). Nähere Erläuterungen finden sich unter 4.5.2.

4.5.2 Auch im zweiten Doppelblindversuch wurden bei den Vergleichsgruppen deutliche Unterschiede hinsichtlich der Hemmung der MDA-Produktion nach ASS- bzw. Placebo-Applikation gefunden.

Die Ausgangswerte beider Probandengruppen lagen mit Mittelwerten von 1,37 nMol/10^9 Thrombocyten (s:0,29 nMol/10^9 Thrombocyten) für die Placebo-Gruppe bzw. 1,33 nMol/10^9 Thrombocyten (s:0,27 nMol/10^9 Thrombocyten) auf annähernd gleicher Höhe. Bei der Placebo-Gruppe wurde eine maximale Hemmung der MDA-Produktion von im Mittel 18,7% (s:20,4%) 48 Stunden nach Applikation gefunden. In der ASS-Gruppe wurde die maximale Hemmung der MDA-Produktion 24 Stunden nach ASS-Applikation mit einem mittleren Wert von 63,1% (s:17,1%) gefunden. Im weiteren Verlauf ging dieser mittlere Wert der MDA-Produktionshemmung stetig bis auf einen Hemmwert von 14% (s:27,2%) zurück. Damit wurde der mittlere Ausgangswert der MDA-Produktion nicht wieder erreicht.

Damit zeigte sich auch bei dieser Untersuchung die aus früheren Mitteilungen bekannte Hemmung

der MDA-Produktion nach ASS-Applikation. Betrachtet man die Retentionswerte und die MDA-Werte beider untersuchter Probandengruppen vergleichend, so ergibt sich für beide Parameter - wenn auch nicht in der absoluten Höhe der Hemmwirkung - so doch in der Tendenz ein paralleler Verlauf.

Bei der Placebo-Gruppe finden sich geringgradige Minderungen der Retentionswerte sowie geringgradige Hemmungen der MDA-Produktion. Im Gegensatz hierzu ist bei der ASS-Gruppe sowohl eine deutliche Minderung der Retentionswerte als auch eine deutliche Hemmung der MDA-Produktion festzustellen.

Damit scheint es möglich, unter Berücksichtigung der beschriebenen methodischen Modifikationen, den Retentionstest zum Nachweis der ASS-Wirkung auf die Thrombocytenfunktion anzuwenden.

Es ist jedoch anzumerken, daß der modifizierte Retentionstest den Nachteil einer erheblich vergrößerten Standardabweichung gegenüber dem ursprünglichen Verfahren hat. In Tabelle 33 sind alle Retentionswerte, die mit dem modifizierten Verfahren in der vierten 1 ml-Probe gewonnen wurden (mit Ausnahme des ersten Doppelblindversuches) zusammengefaßt. Einige Probanden sind mehrfach untersucht worden, der Abstand der einzelnen Untersuchungen voneinander betrug jedoch mindestens 30 Tage, so daß es gerechtfertigt erschien, alle diese Werte mit in die Zusammenstellung aufzunehmen. Aus der Zusammenstellung der beschriebenen Werte errechnet sich ein Mittelwert

von 76,2% bei einer Standardabweichung von 15,3%. Die Werte der Probanden, die im zweiten Doppelblindversuch Placebo-Tabletten erhielten, sind nur als Werte vor Placebo-Applikation aufgenommen, alle nach Placebo-Applikation erhaltenen Werte blieben bei der Zusammenstellung unberücksichtigt.

Ein erheblicher Nachteil des modifizierten Retentionstest ist die Tatsache, daß mit starken intraindividuellen Schwankungen gerechnet werden muß. Bei der Verlaufsbeobachtung der Retentionswerte einzelner Probanden wird dieser Nachteil offenkundig.

Hinsichtlich der möglichen Verwendung des modifizierten Verfahrens gelten die gleichen Bedenken, die sich aus der Verwendung von ASS ergeben, wie bei Einsatz der MDA-Methode zur Bestimmung der Thrombocytenüberlebenszeit (s. auch 4.3.4).

V. VOSS weist im Zusammenhang mit der MDA-Methode zur Bestimmung der Thrombocytenüberlebenszeit darauf hin, daß es sinnvoll ist, die Acetylsalicylsäure intravenös zu injizieren, um die Gefahr lokaler Blutungen herabzusetzen (117). Weiterhin hat dieses Vorgehen den Vorteil geringerer interindividueller Resorptionsunterschiede.

5. Zusammenfassung

Es wird über verschiedene Modifikationen eines Thrombocytenretentionstests sowie über Retentions-

untersuchungen unter Einfluß von Acetylsalicylsäure berichtet. Die Verfahrensmodifikationen beziehen sich auf die Verwendung von Heparin und Citrat bzw. eines Heparin-Citrat-Gemisches als Antikoagulantien sowie auf die Retentionsbestimmung in einzelnen 1 ml-Proben.

Es stellte sich heraus, daß bei Verwendung eines Heparin-Citrat-Gemisches reproduzierbare Retentionsergebnisse gewonnen werden können. Weiter konnte bestätigt werden, daß sowohl Heparin als auch Citrat als einzeln verwendete Antikoagulantien für Retentionsmessungen nicht geeignet sind.

Bei Verwendung der Antikoagulantien-Mischung (5,9 I.E. Heparin/ml Blut + Citrat im Verhältnis von 1:8,5) war es möglich, die Retention bis zur sechsten 1 ml-Probe zu bestimmen. Um einerseits die Forderung nach einem möglichst hohen Retentions-Normwert zur besseren Abgrenzbarkeit pathologischer Werte zu erfüllen sowie andererseits ausreichenden Abstand von der möglichen Gerinnung des Blutes im Glasperlenschlauch zu wahren, wurde für das weitere Vorgehen die Retentionsmessung in der zweiten bis vierten 1 ml-Portion gewählt.

In weiteren Versuchen wurde der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Thrombocytenretention mit dem modifizierten Test untersucht. Dabei konnte eine Minderung der Retention nach Applikation von Acetylsalicylsäure nachgewiesen werden. Diese Retentionsminderung war bereits 30 bis 60 Minuten nach ASS-Applikation nachweisbar. Besonders deutlich war die Retentionsminderung in der vierten

1 ml-Probe. Aus diesem Grund wurden die weiteren Retentionsuntersuchungen in der vierten 1 ml-Probe durchgeführt.

In einem weiteren Versuch wurde der zeitliche Verlauf der Retentionsminderung nach Applikation von Acetylsalicylsäure untersucht. Dabei wurde in den meisten Fällen eine Normalisierung der Retentionswerte nach 5 bis 7 Tagen erreicht; in einzelnen Fällen dauerte dieser Prozeß bis zu elf Tagen.

Diese Ergebnisse konnten in einem Doppelblindversuch mit 14 Probanden bestätigt werden. Dabei wurde zusätzlich zur Retention die Malonyldialdehyd-Produktion der Thrombocyten untersucht. Es ergaben sich bei beiden Parametern deutliche Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen, von denen die Mitglieder der einen Gruppe einmalig 1 g Acetylsalicylsäure peroral, die Mitglieder der anderen Gruppe einmalig Placebo-Tabletten peroral erhalten hatten. Bei den Probanden, denen Acetylsalicylsäure appliziert worden war, ergaben sich eine deutlich größere Hemmung der MDA-Produktion der Thrombocyten sowie eine ausgeprägte Minderung der Retentionswerte.

6. Literaturverzeichnis

1 ADAMS, T.
SCHUTZ, L.
GOLDBERG, L.
Platelet function abnormalities in the myeloproliferative disorders.
Scand. J. Haematol. 13 (1974), 215

2 ANDRASSY, K.
MALLUCHE, H.
BORNEFELD, H.
COMBERG, M.
RITZ, E.
JESDINSKY, H.
MÖHRING, K.
Prevention of p.o. clotting of a.v. Cimino fistulae with acetylsalicylic acid. Results of a prospective double blind study.
Klin. Wochenschr. 52 (1974), 348

3 ANGELKORT, B.
CHMIEL, H.
HOLZHÜTER, H.
WENZEL, E.
Funktionsfähigkeit, Aggregationstendenz und Adhäsivität von Thrombozyten im Vergleich zur Blutviskosität bei v. Willebrand-Syndrom und Urämie.
Med. Welt 23 (1972), 1808

4 BAUMGARTNER, H.R.
Platelet interaction with vascular structures.
Thromb. Diath. Haemorrh., Suppl. 51 (1972), 161

5 BAUMGARTNER, H.R.
Morphometric quantitation of adherence of platelets to an artificial surface and components of connective tissue.
Thromb. Diath. Haemorrh., Suppl. 60 (1974), 39

6 BERN, M.M.
TULLIS, J.L.
Platelet adhesion from nonanticoagulated rat arterial blood.
Thromb. Diath. Haemorrh., 31 (1974), 493

7 BIELAWIEC, M.
PERZANOWSKI, A.
MYSLIWIEC, M.
The influence of some drugs on platelet aggregation and adhesion.
Acta Univ. Carol. (Med. Monogr.) 53 (1972), 211

8 BLOOM, A.L.
BEAMISH, M.R.
ASA and bleeding time.
Lancet 7476 (1966/II), 1319

9	BOHLEN, N. HERTL, M.	Nebenwirkungen antiepileptischer Medikamente. Dtsch. Med. Wochenschr. 100 (1975), 1904
10	BORCHGREVINK, C.F.	Platelet adhesion in vivo in patients with bleeding disorders. Acta Med. Scand. 170 (1961), 231
11	BORCHGREVINK, C.F. OWREN, P.A.	The hemostatic effect of normal platelets in haemophilia and factor V deficiency. The importance of clotting factors absorbed on platelets for normal haemostasis. Acta Med. Scand. 170 (1961), 375
12	BOUNAMEAUX, Y. CAUWENBERGE,H.van	Action de la cortison, de l'ACTH et du salicylate de soude sur les thrombocytes et la coagulation sanguine. Sang. 25 (1954), 889
13	BOUNAMEAUX, Y.	L'accolement des plaquettes aux fibres sous-endotheliales. C.R. Soc. Biol. (Paris) 153 (1959), 865
14	BOWIE, E.J.W. OWEN, C.A. THOMPSON, J.H. DIDISHEIM, P.	Platelet adhesiveness in v. Willebrand's disaese. Am. J. Clin. Pathol. 52 (1969), 69
15	BOWIE, E.J.W. OWEN, E.J.	ASA, platelets and bleeding Circulation 40 (1969), 765
16	BOWIE, E.J.W. OWEN, C.A. THOMPSON, J.H. DIDISHEIM, P.	A test of platelet adhesiveness. Mayo Clin. Proc. 44 (1969), 306
17	BOWIE, E.J.W. OWEN, C.A.	Some factors influencing platelet retention in glass bead columns including the influence of plastics. Am. J. Clin. Pathol. 56 (1971), 479
18	BOWIE, E.J.W. OWEN, C.A.	The value of measuring adhesiveness in the diagnosis of bleeding diseases. Am. J. Clin. Pathol. 60 (1973), 302

19 BREDDIN, K.
BÜRCK, K.H.
Zur Klinik der Thrombozytenfunktionsstörungen unter besonderer Berücksichtigung der Ausbreitungsfähigkeit der Thrombozyten an silikonisierten Glasflächen.
Thromb. Diath. Haemorrh. 9 (1963), 525

20 BREDDIN, K.
BAUKE, I.
Thrombocytenagglutination und Gefäßkrankheiten.
Blut 11 (1965), 144

21 BREDDIN, K.
BÖHLE, E.
Die medikamentöse Beeinflussung der gesteigerten Thrombocytenaggregation bei Patienten mit Gefäßkrankheiten.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 71 (1965)

22 BREDDIN, K.
SCHARRER, I.
Acetylsalicylic acid and platelet function in: Platelet adhesion and aggregation in thrombosis.
Ed. Mammen et al., Schattauer, Stuttgart 1970, p. 241

23 BREDDIN, K.
SCHARRER, I.
Über den Wirkungsmechanismus der Acetylsalicylsäure als Hemmer der Thrombozytenaggregation.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 76 (1970), 585

24 BUCHER, U.
ROBERT, Y.
RIEDWYL, H.
Retention of platelets by glass beads. Vatiation with the age of the individual.
Thromb. Diath. Haemorrh. 29 (1973), 671

25 BUDDE, U.
MÜLLER, N.
ETZEL, F.
Blutungszeit und Thrombozyten-Retention als Screening-Tests beim von Willebrand-Syndrom und bei Thrombozytopathien in: siehe 118, p. 148

26 BUTT, H.R.
LEAKE, W.H.
SOLLEY, R.F.
GRIFFITH, G.C.
HUNTINGTON, R.W.
MONTGOMERY, H.
Studies in rheumatic fever. I. The physiologic effect of sodium salicylate on the human being with particular reference to the prothrombin level of the blood and the effect on hepatic parenchyma.
J.A.M.A. 128 (1945), 1195

27	CLAGETT, G. P. BRIER, D.F. ROSOFF, C.B. SCHNEIDER, P.B. SALZMANN, E.W.	Effect of aspirin on postoperative platelet kinetics and venous thrombosis. Surg. Forum 25 (1974), 473
28	CLARKE, C.A.	Pharmacogenetics. A study of inherited variability in the response to drugs. J. Pharm. Parmacol. Suppl. 14 (1962), 20 T - 30 T
29	CRONBERG, S. ROBERTSON, B. NILSSON, I.M. NILEHN, J.-E.	Suppressive effect of dextran on platelet adhesiveness. Thromb. Diath. Haemorrh. 16 (1966), 384
30	CRONBERG, S.	Effect of fibrinolysis on adhesion and aggregation of human platelets. Thromb. Diath. Haemorrh. 19 (1968), 474
31	CRONBERG, S.	Investigations in haemorrhagic disorders with prolonged bleeding time but normal number of platelets with special reference to platelet adhesiveness. Acta Med. Scand. (Suppl.) 486 (1968), 1
32	DIDISHEIM, P. OWEN, C.A.	Effect of Dipyridamole (Persantin) and its derivates on thrombosis and platelet function. In: Platelet adhesion and aggregation in thrombosis: Countermeasures. Ed.: E.F. MAMMEN, C.F. ANDERSON, M.I. BARNHART; Schattauer, Stuttgart 1970, p.267
33	DOENECKE, C. SCHNEIDER, W.	Über den Einfluß von Salicylaten auf den Energie-Stoffwechsel menschlicher Blutplättchen. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 76 (1970), 579
34	DOERY, J.C.G. HIRSH, J. GRUCHY, G.C.de	Aspirin: its effect on platelet glykolysis and release of adenosine diphosphate. Science 165 (1969), 65

35 DOUTHWAITE, A.H.
LINTOTT, G.A.M.
Gastroscopic observation of the effect of aspirin and certain other substances on the stomach.
Lancet II (1938), 1222

36 EIKA, C.
On the mechanisms of platelet aggregation induced by heparin, protamine and polybrene.
Scand. J. Haematol. 9 (1972), 248

37 EIKA, C.
Platelet refractory state induced by heparin.
Scand. J. Haematol. 9 (1972), 665

38 FABRISZEWSKI, R.S.
NIEWIAROWSKI, K.
WOROWSKI, K.
LIPINSKI, B.
Release of platelet factor 4 in vivo during intravascular coagulation and in thrombotic states.
Thromb. Diath. Haemorrh. 19 (1968), 578

39 FEISSLY, R.
LÜDIN, H.
Microscopie par contrastes de phases. (III.-Applications a l' hematologie).
Rev. Haemat. 4 (1949), 481

40 FRENSCH, G.
Der Einfluß von Kontaktzeit, Durchflußvolumen, Glasperlenbeschaffenheit und Antikoagulantien auf die Thrombocytenretention.
Diss., Universität Düsseldorf, 1977

41 GAETANO, G.de
DONATI, M.B.
GARATTINI, S.
Drugs affecting platelet function tests. Their effects on haemostasis and surgical bleeding.
Thromb. Diath. Haemorrh. 34 (1975), 285

42 GÖBEL, U.
MAK, S.Y.
VOSS, H.von
PETRICH, C.
Variabilität von Blutgerinnungsbefunden bei gesunden und kranken Kindern in:
Erworbene Gerinnungsstörungen im Kindesalter. Hrsg. U. Göbel.
Bücherei des Pädiaters, Band 78 (1977), Enke, Stuttgart, S. 149

43 GRETTE, K.
Studies on the mechanism of thrombin catalyzed hemostatic reactions in blood platelets.
Acta Physiol. Scand. (Suppl.) 195 (1962), 1

44	GROSS, R.	Colfarit^{R}-Composion Köln. 30. September 1970
45	HABERMANN, E. LÖFFLER, H.	Spezielle Pharmakologie und Arzneitherapie. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1979, p. 167
46	HANGARTER, W.	Die Salicylsäure und ihre Abkömmlinge. Ursprung, Wirkung und Anwendung in der Medizin. Schattauer, Stuttgart-New York 1974
47	HARDISTY, R.M.	Platelet factor 3 availability as an irreversible change of the platelet membrane. Acta Med. Scand. Suppl. 525 (1971), 85
48	HARRISON, M.J.G. EMMONS, P.R. MITCHELL, J.R.A.	The effect of sulphydryl and enzyme inhibitors on platelet aggregation in vitro. Thromb. Diath. Haemorrh. 16 (1966), 122
49	HARTMANN, R.C.	Platelet adhesiveness: The retention of platelets on glass surfaces. Thromb. Diath. Haemorrh., Suppl. 26 (1967), 281
50	HATTORI, A. ITO, S. TSUKADA, T. KOIKE, K. MATSUOKA, M.	Platelet adhesion and aggregation in the glass bead column method (HELLEM-II): A scanning electron microscope study. Arch. Histol. Jpn. 36 (1974), 323
51	HELLEM, A.J.	The adhesiveness of human blood platelets in vitro. Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. 51 (1960), 12
52	HELLEM, A.J.	Platelet adhesiveness in v. Willebrand's disease. A study with a new modification on the glass bead filter method. Scand. J. Haematol. 7 (1970), 374
53	HELLEM, A.J.	Adenosinediphosphate-induced platelet adhesiveness in diabetes with complications. Acta Med. Scand. 190 (1971), 291

54	HELLEM, A.J. STORMORKEN, H.	Platelet adhesion-aggregation reaction and its clinical signifiance. In: Recent advances in blood coagulation. Ed.: L. POLLER, Churchill, London 1969, p. 69
55	HOLMSEN, H.	Adenine nucleotide metabolism in platelets and plasma. In: Biochemistry of blood platelets, Eds. E. KOWALSKI, S. NIEWIATOWSKI, Academic Press, London/New York (1967), p. 81
56	HOVIG, T.	The ultrastructure of rabbit blood platelet aggregates. Thromb. Diath. Haemorrh. 8 (1962), 455
57	HOVIG, T.	Aggregation of rabbit blood platelets produced in vitro by saline "extract" of tendons. Thromb. Diath. Haemorrh. 9 (1963), 248
58	HOVIG, T.	Release of a platelet-aggregating substance (adenosine diphosphate) from rabbit blood platelets induced by saline extract of tendons. Thromb. Diath. Haemorrh. 9 (1963), 264
59	HUGUES, J.	Accolement des plaquettes au collagène. C.R. Soc. Biol. (Paris), 154 (1960), 866
60	ITALIAN WORKING GROUP	Spectrum of von Willebrand's disease: a study of 100 cases. Br. J. Haematol. 35 (1977), 101
61	KING, J.B.	The function of the platelet surface in coagulation. Some preliminary observations, with two new tests of platelet function. Thromb. Diath. Haemorrh. 32 (1974), 492
62	KOCSIS, J.J. HERNANDOVICH, J. SILVER, M.G. SMITS, J.B. INGERMAN, C.	Duration of inhibition of platelet prostaglandin formation and aggregation by ingested aspirin or indomethacin. Prostaglandins 2 (1973), 141

63	KUROYANAGI, T. SAITO, M.	Relationship between contents of neuraminic acid and ATP and adhesiveness of the platelet. Tohoku J. Exp. Med. 114 (1974), 339
64	LAGERGREN, H. OLSSON, P. SWEDENBORG, J.	Inhibited platelet adhesion: A non-thrombogenic characteristic of a heparin-coated surface. Surgery 75 (1974), 643
65	LEONARDS, J.R. LEVY, G.	The role of dosage form in acetylsalicylic acid-induced gastrointestinal bleeding. Clin. Pharm. Ther. 8 (1967), 400
66	LEVINE, P.H.	Platelet function tests: predictive value. N. Engl. J. Med. 292 (1975), 1346
67	LEVY, G. HAYES, B.A.	Physiochemical basis of the buffered acetyl salicylicacid controversy. New Engl. J. Med. 262 (1960), 1053
68	LOEW, D. WELLMER, H.-U. BAER, U. MERGUET, H. RUMPF, P. PERSCH, W.F. MARX, F.J. BARY, S.M.von	Postoperative Thrombembolie-Prophylaxe mit Acetylsalicylsäure. Dtsch. Med. Wochenschr. 99 (1974), 565
69	LOEW, D. VINAZZER, H.	Dose-dependent influence of acetylsalicylic acid on platelet functions and plasmatic coagulation factors. Haemostasis 5 (1976), 239
70	LÜSCHER, E.F.	Platelets in haemostasis and thrombosis. Br. J. Haematol. 13 (1967), 1
71	LÜSCHER, E.F.	Report of the subcommittee on current concepts of hemostasis. Thromb. Diath. Haemorrh. Suppl. 26 (1967), 323

72	LÜSCHER, E.F. BETTEX-GALLAND,M.	Thrombostenin, the contractile protein of blood platelets. New facts and problems. Pathol. Biol. (Paris) 20, Suppl. (1972), 89
73	MARTIN, M. SCHÄFER, G. MARTIN, U. JURASCHEK, H. KNÜLL, W.	The inhibition of thrombocyte adhesion by Bencyclane. Experimental and clinical results. Thromb. Res. 4 (1974), 741
74	MASON, R.G. READ, M.S. SABA, S.R. SHERMER, R.W.	Apparent similarity of mechanisms of platelet adhesion and aggregation. Differentiation of these functions from clot retraction. Thromb. Diath. Haemorrh. 27 (1972), 134
75	MC PHERSON, J. ZUCKER, M.B.	Platelet retention in glass bead columns; adhesion to glass and subsequent platelet - platelet interactions Blood 47 (1976), 55
76	MEDICAL RESEARCH COUNCIL	Effect of aspirin on postoperative venous thrombosis. Lancet II (1972), 441
77	MIELKE, C.H. KANESHIRO, M.M. MAHER, J.H. WEINER, J.M. RAPOPORT, S.J.	The standardized normal Ivy bleeding time and its prolongation by ASA. New Engl. J. Med. Vol. 280 No. 9 (1969), 204
78	MUSTARD, J.F.	Platelets, blood coagulation, and thrombosis. In: Physiology of hemostasis and thrombosis. Eds.: S.A. JOHNSON, W.H. SEEGERS. Springfield, Illinois, Thomas 1967. American Lectures in Haematology, p. 288
79	NIESSNER, H.	Messung der Plättchenadhäsivität mit einer modifizierten Form der HELLEM-II-Methodik unter besonderer Berücksichtigung des von Willebrand-Jürgens-Syndroms. Thromb. Diath. Haemorrh. 27 (1972), 434

80 NORDØY, A.
ØDEGAARD, A.E.
The influence of citrate and heparin on the adhesiveness of rat platelets and human platelets measured in vitro.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15 (1963), 399

81 NORDØY, A.
RØDSET, J.M.
Platelet function and platelet phospholipoids in patients with hyperbetalipoproteinaemia.
Acta Med. Scand. 189 (1971), 385

82 O'BRIEN, J.R.
The adhesiveness of native platelets and its prevention.
J. Clin. Pathol. 14 (1961), 140

83 O'BRIEN, J.R.
HEYWOOD, J.B.
Some interactions between human platelets and glass: v. Willebrand's disease compared with normal.
J. Clin. Pathol. 20 (1967), 56

84 O'BRIEN, J.R.
SHOOBRIDGE, S.M.
FINCH, W.J.
Comparison of the effect of heparin and citrate on platelet aggregation.
J. Clin. Pathol. 22 (1969), 28

85 OKUMA, M.
STEINER, M.
BALDINI, M.
Studies on lipid peroxides in platelets II. Effect of aggregating agents and platelet antibody.
J. Lab. Clin. Med. 77 (1971), 728

86 OWEN, G.C.
BRADFORD, H.A.
Ann. Intern. Med. 25 (1946), 97

87 PROCHAZKA, J.
Contribution to the inhibitory effect of antimalarial drugs on platelet adhesiveness.
Acta Univ. Carol. (Med. Monogr.) 52 (1972), 93

88 QUICK, A.J.
Acetylsalicylic acid and hemorrhage.
Lancet II (1966), 1134

89 QUICK, A.J.
ASA and bleeding.
Lancet II (1966), 7473

90 QUICK, A.J.
Acetylsalicylic acid as a diagnostic aid in hemostasis.
Am. J. Med. Sci. 26 (1967), 392

91 QUICK, A.J.
Bleeding-time after ASA ingestion.
Lancet 7544 (1968), 694

92 REUTER, H.
PODOLSAK, B.
HAGEN, I.
LINKER, H.
STRÖDER, J.
GROSS, R.
Investigations on the time dependance of platelet functions.
I. General methodical investigations.
Thromb. Res. 3 (1973), 307

93 ROSSI, E.C.
GREEN, D.
A study of platelet retention by glass bead columns ("platelet adhesiveness" in normal subjects).
Br. J. Haematol. 23 (1972), 47

94 ROTH, G.J.
MAJERUS, P.W.
The mechanism of the effect of aspirin on human platelets.
I. Acetylation of a particulate fraction protein.
J. Clin. Invest. 56 (1975), 624

95 SALZMANN, E.W.
Measurement of platelet adhesiveness. A simple in vitro technique demonstrating an abnormality in v. Willebrand's disease.
J. Lab. Clin. Med. 62 (1963), 724

96 SALZMANN, E.W.
NERI, L.L.
Adhesiveness of blood platelets in uraemia.
Thromb. Diath. Haemorrh. 15 (1966), 84

97 SCHARRER, I.
BREDDIN, K.
Zum Wirkungsmechanismus der Acetylsalicylsäure als Aggregationshemmer.
Colfarit Symposion II, Wuppertal, 1973

98 SCHNEIDER, W.
DOENECKE, C.
SCHEUREN, P.G.
GROSS, R.
Hemmung der Thrombozytenfunktion durch Acetylsalicylsäure.
Med. Welt 22 (1971), 1262

99 SCHNEIDER, W.
KUHLENKAMPFF, G.
SCHEUREN, P.G.
Hemmung der Hexokinase-Aktivität normaler menschlicher Lymphozyten durch Acetylsalicylat.
Med. Welt 22 (1971), 1267

100	SCHÖNDORF, T.H. HEY, D.	Platelet function tests in uraemia and under acetylsalicylic acid administration. Haemostasis 3 (1974), 129
101	SCHÖNDORF, T.H.	Die Wirkung von Acetylsalicyl-Lysin auf die Thrombozytenfunktion. Klin. Wochenschr. 53 (1975),1125
102	SEUTER, F.	Inhibition of platelet aggregation by acetylsalicylic acid and other inhibitors. Haemostasis 5 (1976), 85
103	SEUTER, F.	Hemmung der Kollagen-induzierten Thrombozytenaggregation in vivo und in vitro unter besonderer Berücksichtigung von Acetylsalicylsäure. Med. Welt 27 (N.F.) (1976), 1356
104	SOLOWAY, H.B.	Drug-induced bleeding Am. J. Clin. Pathol. 61 (1974), 622
105	SPAET,T.H. CINTRON, J.	Studies on platelet factor-3 availability. Br. J. Haematol. 11 (1965), 269
106	STAUDACHER, H.L. MÜLLER, H.	Bestimmungen des Salicylat-Spiegels im Plasma nach Verabreichung von Acetylsalicylsäure, sowie einer Kombination von Acetyl-Salicylsäure und Ascorbinsäure. Arzneimittel-Forsch. (Drug. Res.) 19 (1969), 1612
107	STOCKS, J. OFFERMANN, E.L. MODELL, C.B. DORMANDY, T.L.	The susceptibility to autoxidation of human red cell lipids in health and disease. Br. J. Haematol. 23 (1972), 713
108	STORMORKEN,H. OWREN, P.A.	Physiopathology of hemostasis. Semin. Hematol. 8 (1971), 3
109	STUART, M.J. STOCKMAN, J.A. OSKI, F.A.	Acetylsalicylic acid (aspirin) inhibits platelet lipid peroxydation. J. Int. Res. Commun. 2 (1974), 1384

110 STUART, M.J.
MURPHY, S.
OSKI, F.A.
A simple nonradioisotope technic for the determination of platelet lifespan.
N. Engl. J. Med. 292 (1975), 1310

111 SULLIVAN, J.M.
KAGNOFF, M.F.
GORLIN, R.
Reduction of platelet adhesiveness in patients with coronary artery disease.
Am. J. Med. Sci. 255 (1968), 292

112 THOMSON, C.
FORBES, C.D.
PRENTICE, C.R.M.
A comparison of the effects of antihistamines on platelet function.
Thromb. Diath. Haemorrh. 30 (1973), 547

113 TS'AO, C.-H.
ROSE, L.
RAYMOND, M.T.
Critical importance of citrate-blood ratio in platelet aggregation studies.
Am. J. Clin. Pathol. 65 (1976), 518

114 TSCHOPP, T.B.
WEISS, H.J.
BAUMGARTNER, H.R.
Decreased adhesion of platelets to subendothelium in v. Willebrand's disease.
J. Lab. Clin. Med. 83 (1974), 296

115 VOSS, H. von
PETRICH, C.
SCHULZ, H.-U.
KARCH, D.
GÖBEL, U.
Sodium valproate and platelet function.
Br. Med. J. 2 (1976), 179

116 VOSS, H. von
FRENSCH, G.
Der Einfluß von Kontaktzeit, Durchflußvolumen, Glasperlenbeschaffenheit und Antikoagulantien auf die Thrombocytenretention in: s. 42, p. 82

117 VOSS, H. von
Präzisierung und Anwendung von Thrombocytenfunktionstests in der Kinderheilkunde.
Westdeutscher Verlag, Opladen 1979

118 VOSS, H. von
GÖBEL, U.
Praktische Anwendung der Thrombozytenfunktionsdiagnostik. 2. Symposion "Gerinnungsstörungen im Kindesalter" Schloß Heiligenhofen, Lindlar 1979
Thieme, Stuttgart-New York, 1980

119	VINAZZER, H. PÜTTER, J. LOEW, D.	Influence of intravenously administered acetylsalicylic acid on platelet functions. Haemostasis 4 (1975), 12
120	WEISS, H.J. ALEDORT, L.M.	Impaired platelet/connective - tissue reaction in man after aspirin ingestion. Lancet II (1967), 495
121	WEISS, H.J.	Bleeding disorders due to abnormal platelet function. Med. Clin. North Am. 57 (1973), 517
122	WEISS, H.J.	Platelet physiology and abnormalities of platelet function (Two parts). N. Engl. J. Med. 293 (1975), 531; 580
123	ZBINDEN, G. TOMLIN, S.	Effect of heparin on platelet adhesiveness. Acta Haematol. (Basel) 41 (1969), 264
124	ZUCKER, M.B. BORELLI, J.	Viscous metamorphosis, clot retraction, and other morphologic alterations of blood platelets. J. Appl. Physiol. 14 (1959), 575
125	ZUCKER, M.B.	In vitro abnormality of the blood in v. Willebrand's disease correctable by normal plasma. Nature 197 (1963), 601
126	ZUCKER, M.B. PETERSON, J.	Inhibition of adenosine diphosphate-induced secondary aggregation and other platelet functions by acetylsalicylic acid ingestion. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127 (1968), 547
127	ZUCKER, M.B. MC PHERSON, J.	Reactions of platelets near surfaces in vitro: Lessons from the platelet retention test. Ann. NY. Acad. Sci. 283 (1977), 128

Herrn Priv. Doz. Dr. H. v. Voss danke ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die stete Hilfsbereitschaft und die wertvollen Ratschläge bei der Durchführung dieser Arbeit.

Frau M.T. Sievers danke ich für die freundliche Unterstützung und zahlreiche Anregungen bei der Durchführung der Laborarbeiten.

Dem Ministerium für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen danke ich für die großzügige Unterstützung der Untersuchungen im Rahmen des Forschungsprojekts von Herrn Priv. Doz. Dr. H. v. Voss.

L E B E N S L A U F

Am 29. Juli 1954 wurde ich, Hans-Georg Bresser, als Sohn des Bauingenieurs Georg Bresser und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Kleinen, in Bünde/Westfalen geboren.
Nach dem Besuch der Gemeinschaftsschule Südlengerheide/Bünde von 1961 bis 1965 wechselte ich auf das Freiherr-v.-Stein-Gymnasium in Bünde; an dieser Schule legte ich am 18. Mai 1973 die Reifeprüfung ab.
Von Juli bis Dezember 1973 leistete ich Wehrdienst bei der Bundeswehr. Nach Anerkennung als Kriegsdienstverweigerer vor dem Verwaltungsgericht in Minden leistete ich von Januar bis Oktober 1974 Zivildienst in den Krankenanstalten Sarepta (v. Bodelschwinghsche Anstalten, Bethel/Bielefeld).
Zum Wintersemester 1974/75 immatrikulierte ich mich an der Universität Bielefeld für die Fächer Anglistik, Germanistik, Philosophie und Pädagogik. Bis zum Wintersemester 1976/77 schloß ich in diesen Fächern das Grundstudium ab.
Im Wintersemester 1976/77 begann ich an der Ruhr-Universität Bochum das Studium der Medizin. Am 25. August 1978 legte ich in Bochum die ärztliche Vorprüfung ab. Zum Wintersemester 1978/79 wechselte ich an die Universität Düsseldorf. Am 30. August 1979 bestand ich in Düsseldorf den ersten Teil der ärztlichen Prüfung. Am 21. August 1981 legte ich in Hilden den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung ab. Am 20. Oktober 1982 bestand ich in Neuss den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung.

FOTODRUCK J. MAINZ – Telefon: (02 41) 2 73 05
Neupforte 13, Nähe Markt, 5100 Aachen